

Untersuchungen zu Legionellen-Kontaminationen in Warmwassersystemen
in Süddeutschland



Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanwissenschaften
(Dr. sc. hum.)

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Thorsten Dilger
aus
Freiburg im Breisgau

im Jahr
2018

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

Betreuer: Prof. Dr. Dr. André Gessner

Mentorin: Prof. Dr. Christiane Höller

Mentor: Prof. Dr. Jonathan Jantsch

Erklärung

Ich, Thorsten Dilger geboren am 06.01.1978 in Freiburg im Breisgau, erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

München, den

Thorsten Dilger

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	1
2	Abstract.....	2
	Einleitung	3
3	Legionella spp. (L. spp.).....	3
4	Material und Methoden	10
	Resultate.....	15
5	Beweis der Gleichwertigkeit.....	15
6	Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination	1817
7	Vorkommen von verschiedenen <i>L. spp.</i> in Hausinstallationen.....	28
8	Diversität der <i>L. spp.</i> in Hausinstallationen.....	32
9	Vorkommen und Verteilung von <i>L. spp.</i> in Süddeutschland.....	33
10	Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten	39
11	Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion	76
12	Temperatur gegen verschiedene Legionellen.....	90
	Diskussion	92
13	Gleichwertigkeit der klassischen Bestätigung mittels Cystein- Abhängigkeit und der MALDI-Biotyper-Bestätigung	92
14	Die Legionellensituation in Süddeutschland	94
15	Probenahmetemperaturen	95
16	Medizinische Relevanz der verschiedenen Legionellen Arten.....	98
17	Legionellen in Hausinstallationen	99
18	Temperaturabhängigkeiten der unterschiedlichen <i>L. spp.</i>	108
19	Fazit und Ausblicke.....	109
	Anhang	111
20	Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination	111
21	Legionellenverteilung in verschieden Postleitzahlgebieten	112
22	Abbildungsverzeichnis	113
23	Tabellenverzeichnis	117
24	Abkürzungen.....	122
25	Literaturverzeichnis.....	123
	Danksagung.....	I
	Lebenslauf	II

2 Abstract

Legionellen sind wichtige Pathogene für den Menschen, die ernstzunehmende, teilweise lebensbedrohliche Erkrankungen wie Pneumonien verursachen können. Der wichtigste bekannte Infektionsweg ist die Inhalationsinfektion. Als wasser- und wärmeliebende Keime kommen Legionellen in Warmwassersystemen vor. Bei der Nutzung von Warmwasser (besonders beim Duschen) kommt es zu Aerosolbildung. Die Aerosole können eingeatmet werden und so zu einer Legionelleninfektion der Lunge führen.

Bisher sind in der Literatur mehrere Untersuchungen zur Klärung von Infektionsketten beschrieben, ebenso wie die Kontaminationen von Warmwasserinstallationen. Die meisten Untersuchungen sind jedoch lediglich Fallberichte aus Krankenhäusern und Hotels, d. h. die Datenlage zur generellen Legionellenkontamination von Wasserleitungssystemen ist sehr begrenzt.

Mit Änderung der Trinkwasserverordnung sollte in Deutschland die Belastung der Warmwasserinstallationen verringert und eine bessere Datenlage sowie eine Desinfektion von kontaminierten Wassersystemen erreicht werden. Die notwendigen Untersuchungen beruhen auf der ISO 11731 und der Empfehlung des Umweltbundesamtes. Diese Methode liefert als Ergebnis die koloniebildenden Einheiten pro 100 mL von *L. spp.* (*L. spp.*).

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob es durch den Einsatz der relativ neuen Technologie, Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) mit anschließender Massenspektrometrie mittels Flugzeitanalysator (MALDI-TOF) möglich ist, die nach ISO 11731 geforderte Bakterienidentifizierung gleichwertig und verlässlich zu erreichen. Durch diese neue Methode sollte die präzise Keimartbestimmung schneller, effizienter, umweltschonender und kostengünstiger erzielt werden und dabei Zusatzinformationen, wie die Differenzierung verschiedener Legionellenspezies, erreicht werden können.

Die erhaltenen Zusatzinformationen ermöglichten es, verschiedene bisher unbekannte epidemiologische Aspekte zum Vorkommen von Legionellen in Wassersystemen zu erfassen. Das Vorkommen und die Verteilung von verschiedenen Legionellen-Arten in den Warmwassersystemen war bislang nur für wenige Einzelfälle beschrieben und es gab keine systematischen Analysen zum regionalen Verteilungsmuster verschiedener Legionellenspezies.

Ziele dieser Arbeit waren daher I) die Validierung der MALDI-TOF-Methode zur Differenzierung der verschiedenen im Trinkwasser vorkommenden Legionellenspezies sowie II) die Anwendung dieser Methodik zur Erfassung der regionalen Legionellenverteilung in Trinkwassersystemen des süddeutschen Raumes.

Einleitung

3 Legionella spp. (L. spp.)

3.1 Beschreibung

Legionellen sind gram-negative Stäbchen, die in der Familie *Legionellaceae* in der Ordnung *Legionellales* zusammen gefasst sind. Legionellen sind durch die polaren bzw. subpolaren Flagellen beweglich. Sie sind in hohem Maße säuretolerant und können sich in einem großen Temperaturbereich von ca. 20 °C bis ca. 50 °C vermehren. In einzelnen Fällen lassen sich auch Besiedlungen von Warmwasserinstallationen mit Temperaturen von mehr als 66°C beobachten.

3.2 Vorkommen

L. spp. sind ubiquitär in künstlichen und natürlichen Wassersystemen. Durch die natürliche Säuretoleranz können Legionellen aus Wässern mit einem pH-Wert von 2,7 bis zu 8,3 isoliert werden (Anand *et al.*, 1983; Sheehan *et al.*, 2005), ebenso wurden *Legionellaceae* im Grundwasser, im Wasser auf Pflanzen, in gefrorenen Flüssen, vulkanischen Quellen sowie in Meerwasser gefunden. In den meistens kalten Gewässern sind die *Legionellaceae*-Konzentrationen so gering, dass diese nicht mit den üblichen Kulturmethode gefunden werden können. In Wassersystemen mit Temperaturen zwischen 30 °C und 70 °C lassen sich Legionellen in der Regel sehr einfach isolieren. Werden diese Wässer in künstliche Systeme eingefüllt (Wassertanks etc.) mit günstigen Lebensbedingungen, so kann dies zu einer starken Vermehrung führen.

An dieser Stelle sind besonders Whirlpools und Duschen zu nennen, da sich hier die Legionellen, auf Grund der Temperaturen, besonders gut vermehren können. Die Nutzung dieser Installationen führt zur Entstehung von Aerosolen, die zu einer Infektion führen können.

In verschiedenen Studien (Skaliy *et al.*, 1979; Fields *et al.*, 1984) konnte gezeigt werden, dass sich Legionellen in sterilem Wasser über einen langen Zeitraum halten können, aber sich nicht signifikant vermehren. Erst bei Anwesenheit anderer Mikroorganismen konnten sich die Legionellen vermehren (Murga *et al.*, 2001). Aus diesen Experimenten wurde geschlossen, dass Legionellen notwendige Nährstoffe im Wasser finden, entscheidende Wachstumsfaktoren allerdings von anderen Organismen zusätzlich zur Verfügung gestellt werden.

Insbesondere *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) ist in diesem Zusammenhang als intrazellulärer bakterieller Parasit für Protozoen beschrieben, der in den folgenden Protozoenarten festgestellt wurde:

- *Acanthamoeba spp.*
- *Naegleria spp.*
- *Hartmanella spp.*

- *Tetrahymena pyriformis*
- *Tetrahymena vorax*

(Rowbotham, 1980; Tyndall *et al.*, 1982; Fields *et al.*, 1984; Rowbotham, 1984; Wadowsky *et al.*, 1991, Fields *et al.* 1986, Fields, Benson & Besser, 2002)

Protozoen stellen somit einen wichtigen Vektor für das Überleben und Wachstum von *L. spp.* dar. Insbesondere bei chemischen Desinfektionen muss daher sichergestellt werden, dass der eingesetzte Wirkstoff auch die ggf. vorhandenen Protozoen zerstört, da diese ansonsten, wie ein Schutzanzug für die vorhandenen Legionellen wirken (Barker *et al.*, 1992, Cargill *et al.*, 1992).

3.3 Biofilme

Biofilme sind natürliche komplexe Ökosysteme, die in der Regel an Grenzflächen von Phasengrenzen entstehen. So wird zum Beispiel in wässrigen Systemen an den Phasenübergängen flüssig/fest eine erhöhte mikrobielle Aktivität festgestellt. Dabei handelt es sich um ein eigenes „Ökosystem“ was im Allgemeinen als Biofilm bezeichnet wird (Donlan, 2002).

In einem Biofilm, bilden verschiedenen Lebensformen, wie Bakterien, Algen, Protozoen, Pilze und Viren ein symbiotisches System, um sich gegen natürliche Einflüsse, wie Temperatur, Nährstoffmangel aber auch künstliche Einflüsse, wie Desinfektionsmittel zu schützen (LeChevallier *et al.*, 1988). Dabei werden durch Synergismen lebensfeindliche Bedingungen kompensiert (Green, Pirrie, 1993, Allison 2003).

Die Entstehung eines Biofilms stellt einen komplexen Vorgang dar. In Hausinstallationen, als wichtigstes künstliches System für Legionellen, wird die Bildung eines Biofilms durch verschiedene Faktoren, wie Material, Nährstoffe, Temperatur, Durchflussraten etc. beeinflusst. Es gilt, dass niedrige Durchflussraten und lange Stagnationszeiten, die Bildung von Biofilmen fördern.

Generell folgt die Bildung eines Biofilms der folgenden Systematik. Zuerst lagern sich bei neuen Oberflächen zufällig sogenannte Pionierorganismen an. Als Pionierorganismen werden Bakterien bezeichnet, die eine Schleimschicht (Glykokalyx) bilden, indem Polysaccharide kovalent an die Glykoproteine der Zellmembran binden (Morton *et al.*, 1998). Durch diese Schleimschicht sind die Organismen geschützt und haben die Möglichkeit unspezifisch an die Oberfläche zu binden. Aus den einzelnen Bakterien bilden sich Mikrokolonien, die sich weiterhin durch eine Glykokalyx schützen. Die Glykokalyx dient Protozoen als Nährstoff und wird von diesen reduziert, so dass Nährstoffe aus dem Wasser zu den Bakterien vordringen können.

Einige der Bakterien in Biofilmen sind mittlerweile identifiziert, allerdings ist die Interaktion zwischen den verschiedenen Bakterien und Legionellen noch unbekannt (Donlan, 2002).

In verschiedenen Studien konnte jedoch nachgewiesen werden, dass ein Biofilm für das Überleben und die Vermehrung von Legionellen notwendig ist (Kramer & Ford, 1994; Rogers *et al.*, 1994; Williams, Molinari & Andrews, 1996; Martinelli *et al.*, 2000; Goossens, 2001). Beispielsweise wurde gezeigt, dass *L. pneumophila* in sterilem destilliertem Wasser und in sterilem Trinkwasser über einen langen Zeitraum überleben (Skaliy & McEachern, 1979; Fields *et al.*, 1984) sich aber nicht vermehren kann. Demgegenüber kann sich *L. pneumophila* in unsterilem Trinkwasser nicht nur halten sondern auch vermehren (Yee & Wadowsky, 1982), so dass die Abhängigkeit zu anderen Organismen im Wasser als gesichert gewertet werden kann.

Selbst in gut gewarteten Installationen kann die Bildung eines Biofilms nicht vollständig verhindert werden. Allerdings sollte durch technische Maßnahmen und die Auswahl geeigneter Materialien, die nach DVGW Arbeitsblatt W 270 geprüft sind (Anon, 2007), die Biofilmbildung so stark wie möglich unterdrückt werden, da ein Biofilm

- schwierig zu entfernen ist
- den Durchfluss reduzieren kann, was zu stärkerem Wachstum in anderen Abschnitten führt
- organische Verbindungen abgibt, die als Nährstoffe dienen können und zugesetzte Desinfektionsmittel inaktivieren
- durch die Glykokalyx, die Organismen vor Desinfektionsmitteln schützt.

Ein Biofilm stellt somit einen direkten Risikofaktor für den Befall und die Vermehrung von Legionellen in künstlichen Wassersystemen, wie Hausinstallationen, dar (Storey *et al.*, 2004a).

3.4 Infektionen und Krankheitsbild

Die *Legionellaceae* werden als Pathogen eingestuft. Viele verschiedene *L. sp.* sind als Ursache von Krankheitsfällen beschrieben. Eine Übersicht über die bekannten Infektionen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Infektionen mit Legionellen treten weltweit auf. Sehr oft werden Gruppeninfektionen durch eine gemeinsame Infektionsquelle ermittelt. Männer sind dreifach häufiger von Infektionen betroffen als Frauen. $\frac{3}{4}$ der berichteten Fälle sind in der Altersgruppe zwischen 40 – 70 Jahren festgestellt worden. Besondere Risikogruppen sind Menschen mit geschwächter Immunabwehr und Raucher. In Deutschland werden derzeit ca. 5.000 Erkrankungen pro Jahr gemeldet. Ausgehend von seroepidemiologischen Untersuchungen werden jedoch mindestens 15.000 – 30.000 Legionellen-indizierte Pneumonien pro Jahr angenommen.

In Europa wird bei ca. 70 % der berichteten Legionellen-Infektionen *L. pneumophila* Serogruppe 1 festgestellt, bei 20 - 25 % andere Serogruppen und bei 5 – 10 % non-*L. pneumophila* – Species (Joseph, 2002a).

L. spezie	Sero- gruppen	Zusammenhang mit klinischen Fällen	Literaturstelle
<i>L. adelaidensis</i>		Unbekannt	Benson <i>et al.</i> , 1996a Benson & Fields, 1998
<i>L. anisa</i>		Ja	Bornstein <i>et al.</i> , 1989a; Fenstersheib <i>et al.</i> , 1990 ; Thacker <i>et al.</i> , 1990
<i>L. beliardensis</i>		Unbekannt	Lo Presti <i>et al.</i> , 2001
<i>L. birminghamensis</i>		Ja	Wilkinson <i>et al.</i> , 1987
<i>L. bozemanii</i>		Ja	Boldur <i>et al.</i> , 1985; Bornstein <i>et al.</i> , 1987; Bazovska & Spalekova, 1994
<i>L. brunensis</i>		Unbekannt	Wilkinson <i>et al.</i> , 1988
<i>L. busanensis</i>		Unbekannt	Park <i>et al.</i> , 2003
<i>L. cherrii</i>		Unbekannt	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Edelstein & Edelstein, 1989
<i>L. cincinnatiensis</i>		Ja	Thacker <i>et al.</i> , 1988a; Jernigan <i>et al.</i> , 1994; Spieker <i>et al.</i> , 1998
<i>L. drozanskii</i>		Unbekannt	Adeleke <i>et al.</i> , 2001
<i>L. dumoffii</i>		Ja	Edelstein & Pryor, 1985; Fang, Yu & Vickers, 1989
<i>L. drancourtii</i>		Unbekannt	La Scola <i>et al.</i> , 2004
<i>L. erythra</i>		Ja	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Saunders <i>et al.</i> , 1992; Fields <i>et al.</i> , 2002
<i>L. fairfieldensis</i>		Unbekannt	Thacker <i>et al.</i> , 1991
<i>L. fallonii</i>		Unbekannt	Adeleke <i>et al.</i> , 2001
<i>L. feeleei</i>		Ja	Herwaldt <i>et al.</i> , 1984
<i>L. geestiana</i>		Unbekannt	Dennis <i>et al.</i> , 1993
<i>L. genomospecies</i>	1	Unbekannt	Benson <i>et al.</i> , 1996b
<i>L. gormanii</i>		Ja	Lode <i>et al.</i> , 1987; Griffith <i>et al.</i> , 1988
<i>L. gratiana</i>		Unbekannt	Bornstein <i>et al.</i> , 1989b
<i>L. gresilensis</i>		Unbekannt	Lo Presti <i>et al.</i> , 2001
<i>L. hackeliae</i>	2	Ja	; ilkinson <i>et al.</i> , 1985; Brenner <i>et al.</i> , 1985
<i>L. israelensis</i>		Unbekannt	Bercovier <i>et al.</i> , 1986, Sonesson <i>et al.</i> , 1994
<i>L. jamestowniensis</i>		Unbekannt	Wilkinson <i>et al.</i> , 1990; Brenner <i>et al.</i> , 1985
<i>L. jordanis</i>		Ja	Cherry <i>et al.</i> , 1982; Thacker <i>et al.</i> , 1988b
<i>L. lansingensis</i>		Ja	Thacker <i>et al.</i> , 1992
<i>L. londiniensis</i>	2	Unbekannt	Dennis <i>et al.</i> , 1993
<i>L. longbeachae</i>	2	Ja	McKinney <i>et al.</i> , 1981; Boldur <i>et al.</i> , 1985; Chereshtsky & Bettelheim, 1986; Eitrem, Forsgren & Nilsson, 1987; Lode <i>et al.</i> , 1987
<i>L. lytica</i>		Unbekannt	Birtles <i>et al.</i> , 1996
<i>L. maceachernii</i>		Ja	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Merrell <i>et al.</i> , 1991
<i>L. micdadei</i>		Ja	Hebert <i>et al.</i> , 1980
<i>L. moravica</i>		Unbekannt	Wilkinson <i>et al.</i> , 1988
<i>L. nautarum</i>		Unbekannt	Dennis <i>et al.</i> , 1993
<i>L. oakridgensis</i>		Ja	Orrison <i>et al.</i> , 1983; Tang, Toma & MacMillan, 1985
<i>L. parisiensis</i>		Ja	Lo Presti <i>et al.</i> , 1997
<i>L. pneumophila</i>	16	Ja	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Yu, 2000
<i>L. quateirensis</i>		Unbekannt	Dennis <i>et al.</i> , 1993
<i>L. quinlivanii</i>	2	Unbekannt	Benson <i>et al.</i> , 1989; Birtles <i>et al.</i> , 1991; Wilkinson <i>et al.</i> , 1990
<i>L. rowbothamii</i>		Unbekannt	Adeleke <i>et al.</i> , 2001
<i>L. rubrilucens</i>		Unbekannt	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Saunders, Doshi & Harrison, 1992
<i>L. sainthelensi</i>	2	Ja	Benson <i>et al.</i> , 1990
<i>L. santacrucis</i>		Unbekannt	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Lee <i>et al.</i> , 1993
<i>L. shakespearei</i>		Unbekannt	Verma <i>et al.</i> , 1992
<i>L. spiritensis</i>	2	Unbekannt	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Harrison <i>et al.</i> , 1988
<i>L. steigerwaltii</i>		Unbekannt	Brenner <i>et al.</i> , 1985; Edelstein & Edelstein, 1989
<i>L. taurinensis</i>		Unbekannt	Lo Presti <i>et al.</i> , 1999
<i>L. tusconensis</i>		Ja	Thacker <i>et al.</i> , 1989
<i>L. wadsworthii</i>		Ja	Edelstein, 1982a
<i>L. waltersii</i>		Unbekannt	Benson <i>et al.</i> , 1996b
<i>L. worsleiensis</i>		Unbekannt	Dennis <i>et al.</i> , 1993

Tabelle 1: Übersicht über verschiedene L. spp. und beschriebene Infektionen beim Menschen. (Übernommen von WHO (1990))

Als der wichtigste Infektionsweg gilt die Inhalationsinfektion. Dabei werden fein vernebelte Wassertropfen, die Legionellen enthalten, eingeatmet.

Eine Legionelleninfektion kann sich je nach aufgenommener Menge, der Virulenz des Stammes und des Immunstatus des Patienten in zwei Formen manifestieren. In 1 - 5 % der Fälle tritt die Legionärskrankheit (Legionellen-Pneumonie) und in 95 % das Pontiac Fieber auf.

3.4.1 Pontiac Fieber:

Die Inkubationszeit ist abhängig von der Menge der aufgenommenen Legionellen und der Virulenz des Stammes. Von daher schwanken die Angaben von wenigen Stunden bis zu 5 Tagen (Darai, G; 2003).

Die Infektion äußert sich durch Grippe-ähnliche Symptome wie Schwindel, Fieber, Hals-, Kopf- und Gliederschmerzen. Die Infektion klingt meisten ohne Antibiose nach einigen Tagen ab.

3.4.2 Legionärskrankheit: Schwerer Verlauf mit Lungenentzündung

Bei der Legionellen-Pneumonie treten die ersten Symptome nach 2 bis 10 Tagen auf und äußern sich meist in Unwohlsein, Fieber (bis zu 40 °C), unproduktiven Husten, Schüttelfrost, Kopf- und Muskelschmerzen bis hin zu Brustschmerzen, Atemnot und Verwirrtheit. In einigen Fällen werden zusätzlich Bauchschmerzen mit Durchfall und Erbrechen beobachtet.

Unbehandelt liegt die Letalitätssrate bei ca. 20 %.

4 MALDI-TOF

4.1 Grundlagen

Die Abkürzung MALDI-TOF steht für „Matrix assisted Laser Desorption Ionisation mit Time Of Flight Massenspektrometer“. Der Analyt wird mittels Laserpulse in die Gasphase gebracht, ionisiert, in einem elektrischen Feld beschleunigt und im Massenspektrometer detektiert. Dieses Verfahren ist besonders gut zur Charakterisierung von Biomolekülen geeignet, da diese durch die sogenannte „soft-ionisation“ nicht fragmentiert werden.

Im Detail läuft die Analyse wie folgt ab:

Zuerst wird ein niedermolekularer Hilfsstoff die sogenannte Matrix im deutlichen Überschuss (100 bis 10.000-fach) mit dem Analyten vermischt und auf einem Probenträger, dem sogenannten Target, kristallisiert.

Als Matrix dienen Stoffe wie α -Cyano-4-hydroxycimtsäure, Sinapinsäure oder 2,5-Dihydroxybenzoesäure. Diese Stoffe zeichnen sich durch ein ausgeprägtes, konjugiertes π -System aus. (Vergl. Abbildung 1)

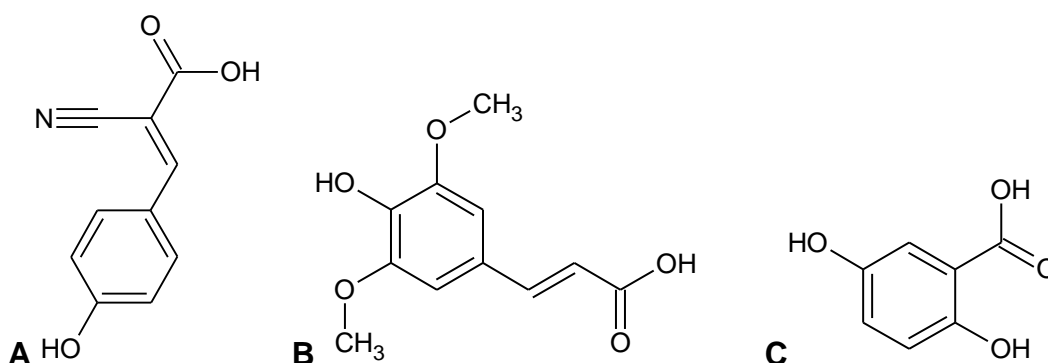


Abbildung 1: Strukturformeln von A) α -Cyano-4-hydroxycimtsäure, B) Sinapinsäure und C) 2,5-Dihydroxybenzoesäure, die bei der MALDI-TOF Analyse häufig als Matrix eingesetzt werden.

Mit einem Laserpuls von wenigen Nanosekunden wird eine große Menge Energie auf die Kristalle bzw. in das π -System übertragen. Das System reagiert auf den Energieimpuls in der Form, dass sich die oberste Schicht des Analyten-Matrix-Kristalls explosionsartig ablöst und in die Gasphase übergeht. Bei diesem Prozess wird der Analyt durch die Übertragung des Protons der Carboxyl-Gruppe ionisiert. In der Regel wird ein Proton auf den Analyten übertragen.

Der ionisierte Analyt wird in das Time-Of-Flight-Massenspektrometer geleitet. Hier werden in einem starken elektrischen Feld die Analyten beschleunigt. Die Beschleunigung erfolgt gemäß dem Massen/Landungsverhältnis des Analyten nach folgender Gesetzmäßigkeit:

$$\frac{m}{z} = 2E_{kin} \frac{t^2}{s^2}$$

$$\frac{m}{z} = 2E_{kin} \frac{t^2}{s^2}$$

m = Masse des Ions

z = Ladung des Ions

E_{kin} = Kinetische Energie des Ions

t = Flugzeit

s = Länge des Flugrohrs

Daraus ergibt sich eine Time-Of-Flight (TOF) von:

$$TOF \propto \sqrt{\frac{m}{z}}$$

Wie man aus der Formel erkennen kann, gilt bei gleicher Ladung, je kleiner der Analyt, desto kürzer die Flugzeit. Auf diese Weise können die Analyten getrennt werden und die Größe in Abhängigkeit der TOF ermittelt werden.

4.2 Anwendung in der Mikrobiologie

In der Mikrobiologie müssen die verschiedenen Bakterienarten identifiziert werden. Besonders in der klinischen Mikrobiologie ist dieser Schritt besonders zeitkritisch, da in Abhängigkeit der Identifikation von Bakterien die Medikation abgestimmt wird. Das klassische Verfahren beruht dabei auf den Stoffwechseleigenschaften der einzelnen Keime (biochemische Identifikation, sog. „bunte Reihe“), was einen hohen Zeit- und Materialaufwand bedeutet, und ein hohes Fachwissen von den Anwendern abverlangt. Allerdings kann es bei der biochemischen Identifikation schnell zu Fehlbefunden kommen, da gestresste Bakterien (Umwelteinflüsse, Antibiotika-Therapie) wichtige Eigenschaften verlieren können. Alternativ dazu sind die molekularbiologischen Verfahren wie die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit anschließender Sequenzierung ein wichtiges Hilfsmittel. Dieses Verfahren gilt mittlerweile als der Goldstandard, da hier direkt das Erbgut identifiziert wird. Hier sind ebenfalls ein hoher Kosten- und Arbeitsaufwand nötig, um zu einem Ergebnis zu gelangen.

Das MALDI-TOF-Verfahren bildet hier eine extrem schnelle und kostengünstige Alternative. Die Bakterien werden direkt auf ein Edelstahl-Target aufgetragen, mit der Matrix überschichtet und im MALDI-TOF gemessen. Die so erhalten Spektren werden mit einer Datenbank abgeglichen und die Bakterien können so extrem schnell identifiziert werden. Grundlage des Verfahrens ist dabei die 16s Ebene der DNS. Diese wird in die entsprechenden Proteine übersetzt, die wiederum im MALDI-TOF gemessen und zum Abgleich verwendet werden können. Auf Grund der sehr schnellen und genauen Identifikation hält das MALDI-TOF-Verfahren immer mehr Einzug in die mikrobiologischen Laboratorien und übernimmt eine wichtige Rolle bei der Identifikation von medizinisch relevanten Bakterien, wie zahlreiche Publikationen zeigen. (Bizzini and Greub, 2010; Seng *et al.*, 2010; Croxatto *et al.*, 2012; Patel, 2013; Patel, 2015; Moura *et al.*, 2003; Carbonnelle *et al.*, 2007; Barbuddhe *et al.*, 2008; Dieckmann *et al.*, 2008; Williamson *et al.*, 2008; Nagy *et al.*, 2009; Ayyadurai *et al.*, 2010; Bittar *et al.*, 2010; Konrad *et al.*, 2010; Lotz *et al.*, 2010; Rezzonico *et al.*, 2010; Stephan

et al., 2010; Verroken *et al.*, 2010; Binghuai *et al.*, 2014; Branquinho *et al.*, 2014)

5 Material und Methoden

5.1 Material und Hilfsmittel

5.1.1 Geräte:

- Lötlampe Lötmaster 1000 (CHF)
- Brutraum, thermostatisiert bei 36 ± 1 °C
- 3-fach Microfil Vakuumfiltrationsständer, komplett (Merck-Millipore, MIAC03P01)
- Vakuumpumpe EZ-Stream Universal Pump (Merck-Millipore, EZSTREAM1)
- Microfil-Trichter 100 mL (Merck-Millipore MZHAWG101)
- Pinzette, Edelstahl (VWR)
- Kolbenhubpipette (Brand, Transferpette ® S), 100 µl bis 1000 µl
- Kolbenhubpipette (Brand, Transferpette ® S), 0,1 µl bis 10 µl
- Medienautoklav (Systec DX150)
- Vernichtungsautoklav (Systec VX150)
- Elektrischer Timer
- Edelstahltarget (Bruker)
- MALDI-TOF, MALDI-Biotyper inkl. Software (Bruker)
- Zentrifuge, Galaxy (VWR)

5.1.2 Chemikalien

- Ameisensäure für die Massenspektroskopie (Sigma-Aldrich)
- α -Cyano-4-hydroxymizsäure (HCCA)
- Acetonitril LC/MS grade (Fluka)
- Trifluoressigsäure, Sigma-Aldrich, 100%
- Wasser für HPLC LC-MS GRADE (VWR)
- Ethanol, absolut reinst (Sigma-Aldrich)
- Analysenwaage (Satorius BP 310 S)
- Legionellen Säurepuffer HCl/KCl pH=2,2, steril

5.1.3 Verbrauchsmaterial

- GVPC Agarplatten (BD, 257586)
- BCYE Agarplatten (BD, 254543)
- CASO Agarplatten (BD 254086)
- Impfösen (Sarstedt)
- Pipettenspitzen, steril, mit Filter 1250 µl (Biotix)
- Pipettenspitzen, steril, mit Filter 10 µl (Biotix)
- 1,5 mL Reaktionsgefäße Safelock, steril, PCR-grade (Sarstedt)
- Zahnstocher (VWR)
- Schwarze Nitrozellulose Membranfilter, Durchmesser 47 mm, Porendurchmesser 0,45 (Merck-Millipore, MSP000814)
- 1L Laborflaschen (Duran)
- Bottletop-Filter PES 0,45µm (Nalgene)

5.2 Kulturelles Verfahren zum Nachweis von *L. spp.* nach ISO 11731

5.2.1 Ansatz

Das Verfahren zum Nachweis von *L. spp.* beruht auf 2 Elementen.

1. Membranfiltration

Hierbei werden 100 mL Probe über einen sterilen Nitrocellulose-Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm (Millipore) filtriert.

Der Filter wird für 5 min. mit Säurepuffer (HCl/KCl) pH-Wert = 2,2 überschichtet, anschließend mit sterilem Wasser gespült und auf das Nährmedium GVPC (Becton Dickinson) überführt.

2. Direktansatz

1 mL Probe werden auf 2 GVPC-Platten verteilt und mit einem sterilen Drigalskispatel auf den Platten verteilt.

Beide Ansätze werden für 10 Tage bei 36 ± 1 °C bebrütet und auf verdächtige Kolonien untersucht.

5.2.2 Verdächtige Kolonien

Als verdächtige Kolonien werden weiße, graue, blaue, violette, braune und lindgrüne Kolonien gezählt. Die beiden Ansätze werden unabhängig voneinander betrachtet. Die gezählten Kolonien müssen über eine Bestätigungsreaktion als *L. spp.* identifiziert werden. Dabei dürfen nur Platten mit einem Zählwert < 200 KBE zur Auswertung herangezogen werden.

5.2.3 Bestätigung

Die Bestätigungsreaktion beruht auf der Aminosäure L-Cystein. *L. spp.* sind auf diese Aminosäure angewiesen und können ohne L-Cystein nicht kultiviert werden. Deshalb werden die verdächtigen Kolonien auf einem cysteinhaltigen (BCYE Becton Dickinson) und einem cysteinfreien Medium (CASO - Becton Dickinson) ausgestrichen und für mindestens 48 h bei 36 ± 1 °C bebrütet.

Für jeden Ansatz erfolgt die Bestätigung unabhängig. Es werden mindestens 4 Kolonien zur Bestätigung herangezogen. Wachsen unterschiedliche Kolonien auf dem Medium, sollten die verschiedenen Kolonien zur Bestätigung herangezogen werden.

Als bestätigte Legionellen werden Kolonien gewertet, die auf BCYE wachsen, nicht aber auf CASO-Agarplatten (vergl. Tabelle 2).

Ergebnis	BCYE	CASO
L. spp.	Wachstum	KEIN Wachstum
Keine L. spp.	Wachstum	Wachstum
Keine L. spp.	KEIN Wachstum	KEIN Wachstum
Keine L. spp.	KEIN Wachstum	Wachstum

Tabelle 2: Bewertung der Legionellen-Bestätigungsreaktion

5.2.4 Auswertung

Die bestätigten Legionellen werden im Verhältnis zu den durchgeführten Bestätigungen gesetzt und der prozentuale Anteil berechnet. Dieser Anteil wird mit dem Ergebnis der Anzahl multipliziert.

$$x = n_g \frac{n_b}{n_a}$$

x: Anzahl der Legionellen

n_g: Anzahl der verdächtigen Kolonien im Ansatz

n_a: Anzahl der durchgeführten Bestätigungen im Ansatz

n_b: Anzahl der bestätigten Legionellen im Ansatz

Diese Berechnung wird für beide Ansätze durchgeführt. Anschließend wird das Ergebnis für den 1 mL Ansatz mit 100 multipliziert und das höhere Ergebnis als Endergebnis ausgewiesen.

5.3 MALDI-TOF Biotyper

Die Messungen erfolgten an einem MALDI-TOF Biotyper (Bruker) gemäß den Herstellerangaben. Zur Probenvorbereitung kamen die 3 folgenden Verfahren zum Einsatz.

5.3.1 Direkt-Transfermethode

Mit einem sterilen Zahnstocher wird eine Kolonie gepickt, auf ein MALDI-TOF Biotyper Edelstahltarget übertragen und auf einem eingezeichneten Messpunkt (Spot) gleichmäßig verteilt. Der Spot wird mit 1 µL Matrix (10 mg/mL α-Cyano-4-hydroxymethylsäure gelöst in einer Mischung aus 50 % Acetonitril, 47,5 % (V/V) Wasser und 2,5 % (V/V) Trifluoroessigsäure) überschichtet und bei RT getrocknet. Anschließend wird das Target im MALDI Biotyper gemessen.

5.3.2 On Target – Präparation

Mit einem sterilen Zahnstocher wird eine Kolonie gepickt, auf ein MALDI-TOF Biotyper Edelstahltarget übertragen und auf einem eingezeichneten Messpunkt gleichmäßig verteilt. Das Koloniematerial wird mit 1 µL Ameisensäure bedeckt. Ist die Ameisensäure getrocknet, wird der Spot mit 1 µL Matrix (10 mg/mL α-Cyano-4-hydroxymethylsäure gelöst in einer Mischung aus 50 % Acetonitril, 47,5 % (V/V) Wasser und 2,5 % (V/V) Trifluoroessigsäure) überschichtet und bei RT getrocknet. Anschließend wird das Target im MALDI Biotyper gemessen.

5.3.3 Extraktionspräparation

In einem 1,5 mL Reaktionsgefäß werden 300 µL Aqua dest. (für LC/MS) vorgelegt. Eine Kolonie wird suspendiert. Dabei darf kein Nährmedium mittransferiert werden. Anschließend werden 700 µL 100 %iges Ethanol zugeben, gründlich gemischt und 2 min. bei 13.000 g zentrifugiert. Der Überstand wird vorsichtig abpipettiert und verworfen. Das Pellet wird ca. 30 min bei RT vollständig getrocknet, in 25 µL Ameisensäure resuspendiert und mit 25 µL Acetonitril gemischt. Die Mischung wird 1 min bei 13.000 g zentrifugiert und 1 µL des Überstands auf ein Target transferiert. Nach dem Trocknen wird der Spot mit 1 µL Matrix (10 mg/mL α -Cyano-4-hydroxizimtsäure gelöst in einer Mischung aus 50 % Acetonitril, 47,5 % (V/V) Wasser und 2,5 % (V/V) Trifluoroessigsäure) überschichtet und bei RT getrocknet. Anschließend wird das Target im MALDI Biotyper gemessen.

Resultate

6 Untersuchung der Methoden- Gleichwertigkeit

Diese Daten wurden unter dem Titel "Rapid and reliable identification of waterborne Legionella species by MALDI-TOF mass spectrometry" im Journal of Microbiological Methods publiziert (Dilger *et al* 2016b).

6.1 Grundlagen

In der Analytik ist es wichtig bei Modifikationen von Methoden sicherzustellen, dass die Ergebnisse verschiedener Verfahren gleichwertig sind. Für Verfahren im Wasserbereich gilt hierzu die Norm ISO 17994:2004 (Anon, 2004a). Die Zählwerte werden klassisch nach der ISO 11731 (Anon, 2008) und den Vorgaben des Umweltbundesamtes (UBA) ermittelt. Die Modifikation besteht darin, die verdächtigen Legionellen mittels MALDI Biotyper zu analysieren.

Sowohl bei der klassischen rein kulturellen Bestätigung, als auch bei der Modifikation (MALDI-TOF-Verfahren), erhält man als Ergebnis für die jeweilig geprüfte Kolonie „*L. spp.* nachgewiesen“ oder „*L. spp.* nicht nachgewiesen“. Für Methoden mit dem Ergebnis „Nachweisbar“ / „Nicht nachweisbar“ muss gemäß der Norm eine Poisson-Verteilung kleiner 4 vorliegen, damit die Methoden als gleichwertig angesehen werden können.

6.2 Durchführung

Um zu prüfen, ob die Ergebnisse des MALDI Biotyper mit den Ergebnissen der kulturellen Bestätigungen übereinstimmen, wurden 3.020 Kolonien aus 703 Wasserproben parallel mit beiden Methoden geprüft. Die ausgewählten Kolonien wurden mittels Direkt-Transfermethode auf das Target überführt und auf einem Cystein-haltigen Medium sowie einem Cystein-freien Medium ausgeimpft. Die Ergebnisse des MALDI Biotypers wurden nur dann akzeptiert, wenn der ermittelte Score über 1.700 lag und somit gemäß den Herstellerangaben eine gesicherte Identifikation auf Genus-Ebene erfolgte. Ergebnisse mit der Identifikation *L. sp.* wurden als positive Bestätigung im Sinne der ISO 11731 betrachtet. Andere Gattungen als negative Ergebnisse. Kolonien mit einem geringeren Score (<1.700) wurden wiederholt. War es nicht möglich, einen Score über 1.700 zu erreichen, wurden die Kolonien eingefroren und für eine spätere Identifikation mittels PCR und anschließender Sequenzierung zurückgestellt.

	Biochemische ID		MALDI Biotyper	
	[Anzahl]	[%]	[Anzahl]	[%]
Gesamtzahl der untersuchten Kolonien	3.020	100	3.020	100
Identifiziert als <i>L. spp.</i>	2.962	98,1	2.944	97,5
Identifiziert als <i>NON-L. spp.</i>	58	1,9	51	1,7
No reliable Identifikation	-	-	25	0,8

Tabelle 3: Anzahl der Kolonien aus Wasserproben, die als verdächtige *L. spp.* untersucht und identifiziert wurden. ISO 11731-2; ISO 17994:2004

Gemäß ISO 17994:2004 soll aus den Fehlidentifikationen die Poission-Verteilung ermittelt werden:

$$\chi^2 = \frac{(n_A - n_B)^2}{(n_A + n_B)}$$

n_A = Anzahl der Untersuchungen mit positiver Biochemie und negativem MALDI Biotyper Ergebnis

n_B = Anzahl der Untersuchungen mit positiver Biochemie und negativem MALDI Biotyper Ergebnis

Die beiden Methoden sind im untersuchten Probenkollektiv absolutgleichwertig, so dass es zu keinen Fehlbefunden oder diskrepanten Ergebnissen kam. Bei 25 Kolonien war keine Identifikation möglich. Diese Ergebnisse wurden entsprechend gekennzeichnet, um Fehlinterpretationen auszuschließen.

6.3 Bestätigung der Ergebnisse

Zur Verifikation dieser Ergebnisse und um zu prüfen, ob diese Ergebnisse auch an anderen MALDI Biotyper-Geräten reproduzierbar sind, wurden verschiedene Legionellenkolonien in der AGROLAB GROUP gesammelt und eingefroren. Diese Isolate wurden am Institut für Mikrobiologie und Hygiene – Universität Regensburg (IMHR) rekultiviert und am dortigen MALDI-Biotyper gemessen.

Alle rekultivierten Isolate von Legionellen konnten mit einer hohen Zuverlässigkeit mittels Direkttransfermethode im IMHR bestätigt werden.

Ebenso wurden Kolonien gesammelt, die in der AGROLAB GROUP nicht bestätigt werden konnten sowie Kolonien, die keine Legionellen waren. Diese Kolonien konnten am IMHR nach der Rekultivierung identifiziert werden.

6.4 Anpassung des Verfahrens

Auf Grund der Tatsache, dass nach Rekultivierung der Kolonien im IMHR, die Identifikation am MALDI-Biotyper mit höherer Zuverlässigkeit erfolgte, wurde das Vorgehen wie folgt angepasst: Nach der Inkubation wurden die Legionellen mittels MALDI-Biotyper bestätigt, bei Ergebnissen mit einem Score kleiner als 1.700 wurden die Messungen von der Subkultur (BCYE) wiederholt. Mit dieser Methode wurden 22.678 Kolonien überprüft. Bei nur 0,6 % der geprüften Kolonien war es auch nach Subkultur nicht möglich, einen Score über 1.700 zu erreichen.

6.5 Datensammlung

Die Daten aus der Bestätigung mittels MALDI Biotyper wurden in der Datenbank der AGROLAB GROUP bei den jeweiligen Parametern abgelegt, d. h. die Bestätigungen aus dem 100 mL Ansatz wurden auch dort gespeichert.

Erfolgte eine Identifizierung mit einem Score ≥ 2.000 , also einer Identifikation der Gattung und Spezies wurde die Gattung und Spezies in der Datenbank hinterlegt.

Bei einem Score < 2.000 und > 1.700 , was einer Identifikation auf Gattungsebene entspricht, wurde in der Datenbank *L. sp.* und in Klammern die wahrscheinlichste Spezies hinterlegt.

Auf diese Weise wurden über ca. 1 Jahr Daten zu den in Wassersystemen nachgewiesenen und identifizierten Legionellen gesammelt.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

Diese Daten wurden unter dem Titel "Legionellen-Kontaminationen in Warmwassersystemen in Deutschland: Einfluss der maximal erreichbaren Temperatur und der Temperatur bei der Probenahme" in der Fachzeitschrift GWF publiziert (Dilger *et al* 2016a).

7.1 Vorgehen

Als Grundlage für die Auswertung und um die Datensätze sinnvoll zu bündeln, wurden jeweils zwei Betrachtungen nach den gegenwärtig rechtlich gültigen Bewertungsgrundlagen durchgeführt.

In der Trinkwasserverordnung (Anon, 2013) ist ein technischer Maßnahmewert (> 100 KbE/100 mL) definiert. Wird dieser Wert überschritten, besteht eine Meldepflicht des Betreibers der Warmwasseranlage an das jeweilige Gesundheitsamt. In Zusammenarbeit von Betreiber und Gesundheitsamt werden dann geeignete Maßnahmen festgelegt, wie z.B. weitergehende Untersuchungen, Gefährdungsanalysen, Desinfektionsmaßnahmen etc. Eine weitere Einteilung der Legionellen-Ergebnisse erfolgt durch das DVGW-Arbeitsblatt W 551 (Anon. 2004b). In diesem Arbeitsblatt werden die folgenden Einteilungen vorgenommen (Tabelle 4):

Geringe Kontamination [KbE / 100 mL]	Mittlere Kontamination [KbE / 100 mL]	Hohe Kontamination [KbE / 100 mL]	Extrem hohe Kontamination [KbE / 100 mL]
≤ 100	> 100	> 1.000	> 10.000

Tabelle 4: Einteilung der Kontaminationen gemäß DVGW-Arbeitsblatt W 551

Die Ergebnisse wurden hinsichtlich der Einteilung durch das DVGW-Arbeitsblatt W 551 in die entsprechenden Kontaminationsgruppen eingeteilt und die erhaltenen Werte in Tabelle 5 gruppiert dargestellt. Dabei wurde im Bereich unterhalb des technischen Maßnahmewertes zusätzlich noch zwischen „keiner Kontamination“ (0 KBE/ 100 mL) und „geringer Kontamination“ (< 100 KBE/ 100 mL) unterschieden, um den Anteil völlig unbelasteter Anlagen zu untersuchen bzw. zu klären, in wieweit Anlagen unterhalb des technischen Maßnahmewertes dennoch mit Legionellen belastet sind.

Außerdem wurden die Daten hinsichtlich der Einhaltung des technischen Maßnahmewertes geprüft (Eingehalten / Nicht eingehalten) und in Tabelle 6 dargestellt.

Im Folgenden werden die ermittelten Kontaminationen in Zusammenhang mit den ermittelten Temperaturen bei der Probenahme und den maximal erreichbaren Temperaturen gebracht, um zu untersuchen, welche Größenordnungen der Kontaminationen in Abhängigkeit von den jeweiligen Temperaturen in den Warmwasseranlagen herrschen.

	Keine Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Geringe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Mittlere Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Extrem hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
Gesamt	106.920	(79,15)	17.241	(12,76)	8.136	(6,02)	2.322	(1,72)	456	(0,34)
2014	75.324	(78,30)	12.926	(13,44)	5.939	(6,17)	1.699	(1,77)	310	(0,32)
2013	31.116	(81,04)	4.315	(11,24)	2.197	(5,72)	623	(1,62)	146	(0,38)

Tabelle 5: Eingruppierung gemäß DVGW Arbeitsblatt W551 – In der Tabelle wird eine Übersicht über die Anzahl der Proben sowie deren prozentualer Anteil in der jeweiligen Kategorie gegeben.

	Techn. Maßnahmewert eingehalten [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Techn. Maßnahmewert nicht eingehalten [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
Gesamt	124.161	(91,92)	10.914	(8,08)
2014	88.250	(91,74)	7.948	(8,26)
2013	35.911	(92,37)	2.966	(7,63)

Tabelle 6: Darstellung der Probenzahl und deren prozentuale Verteilung hinsichtlich des technischen Maßnahmewertes

7.2 Maximal erreichbare Temperatur

Zur Auswertung der Kontaminationen in Bezug auf die maximal erreichbaren Temperaturen, wurden Temperaturschritte von 5 °C definiert und die Proben diesen zugeordnet, dies ist in Tabelle 7 dargestellt. Auch hier wurde zusätzlich zur DVGW Vorschrift zwischen keiner Kontamination und geringer Kontamination unterschieden. Zur besseren Veranschaulichung wurden die Werte aus der Tabelle 7 grafisch in Abbildung 2 dargestellt. Auch hier wurden die Daten bezüglich der Einhaltung des technischen Maßnahmewertes gruppiert und in Tabelle 8 bzw. Abbildung 3 veranschaulicht.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

Temperaturbereich [°C]	Keine Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Geringe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Mittlere Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Extrem hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]
5,1 – 10	70 (81,40)	13 (11,63)	3 (6,98)	0 (0,00)	0 (0,00)
10,1 – 15	368 (85,38)	51 (9,98)	6 (3,25)	5 (1,16)	1 (0,23)
15,1 – 20	353 (74,63)	67 (11,21)	44 (12,26)	6 (1,27)	3 (0,63)
20,1 – 25	237 (68,10)	62 (14,66)	43 (15,52)	5 (1,44)	1 (0,29)
25,1 – 30	186 (65,26)	59 (16,14)	25 (13,33)	15 (5,26)	0 (0,00)
30,1 – 35	381 (66,84)	105 (15,44)	52 (12,11)	30 (5,26)	2 (0,35)
35,1 – 40	1.002 (71,47)	229 (13,98)	97 (9,27)	55 (3,92)	19 (1,36)
40,1 – 45	2.242 (67,55)	618 (14,97)	274 (11,90)	159 (4,79)	26 (0,78)
45,1 – 50	7.943 (68,78)	2.134 (15,21)	917 (11,21)	449 (3,89)	104 (0,90)
50,1 – 55	23.639 (71,51)	6.599 (17,19)	1.87 (8,43)	788 (2,38)	160 (0,48)
55,1 – 60	41.035 (80,78)	7.479 (12,91)	1.566 (4,90)	610 (1,20)	109 (0,21)
60,1 – 65	21.52 (89,82)	1.934 (7,04)	343 (2,46)	140 (0,58)	22 (0,09)
65,1 – 70	4.287 (94,70)	194 (3,76)	35 (1,30)	10 (0,22)	1 (0,02)
70,1 – 75	863 (96,32)	22 (2,01)	7 (1,23)	3 (0,33)	1 (0,11)
75,1 – 80	168 (98,25)	3 (1,17)	1 (0,58)	0 (0,00)	0 (0,00)
80,1 – 85	18 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
85,1 – 90	3 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
90,1 – 95	2 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
95,1 – 99,9	1 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
nicht bestimmt	2.602 (81,77)	384 (12,07)	142 (4,46)	47 (1,48)	7 (0,22)

Tabelle 7: Kontaminationen bei maximal erreichbarer Temperatur. Die Proben wurden in Temperaturbereiche unterteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil im jeweiligen Temperaturbereich aufgelistet.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

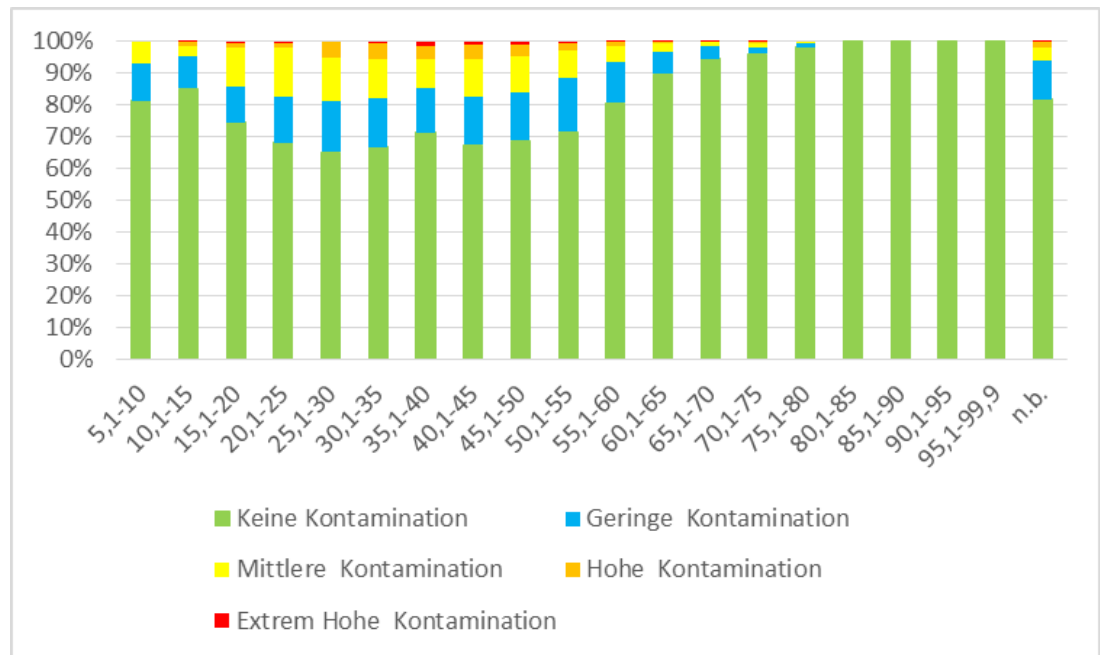


Abbildung 2: Kontamination nach DVGW W551 in Bezug auf die max. erreichbare Temperatur. In der Abbildung wird die Kontamination der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.

Temperaturbereich [°C]	Techn. Maßnahmewert eingehalten		Techn. Maßnahmewert nicht eingehalten	
	[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
5,1 – 10	83	(96,51)	3	(3,49)
10,1 – 15	419	(97,22)	12	(2,78)
15,1 – 20	420	(88,79)	53	(11,21)
20,1 – 25	299	(85,92)	49	(14,08)
25,1 – 30	245	(85,96)	40	(14,04)
30,1 – 35	486	(85,26)	84	(14,74)
35,1 – 40	1.231	(87,80)	171	(12,20)
40,1 – 45	2.86	(86,17)	459	(13,83)
45,1 – 50	10.078	(87,28)	1.469	(12,72)
50,1 – 55	30.238	(91,48)	2.818	(8,52)
55,1 – 60	48.514	(95,50)	2.285	(4,50)
60,1 – 65	23.454	(97,89)	505	(2,11)
65,1 – 70	4.481	(98,98)	46	(1,02)
70,1 – 75	885	(98,77)	11	(1,23)
75,1 – 80	171	(99,42)	1	(0,58)
80,1 – 85	18	(100,00)	0	(0,00)
85,1 – 90	3	(100,00)	0	(0,00)
90,1 – 95	2	(100,00)	0	(0,00)
95,1 – 99,9	1	(100,00)	0	(0,00)
nicht bestimmt	3.038	(95,47)	144	(4,53)

Tabelle 8: Technischer Maßnahmewert bei max. erreichbarer Temperatur. Die Proben wurden in Hinblick auf die max. erreichbare Temperatur in Temperaturbereiche

eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil für den jeweiligen Temperaturbereich dargestellt.

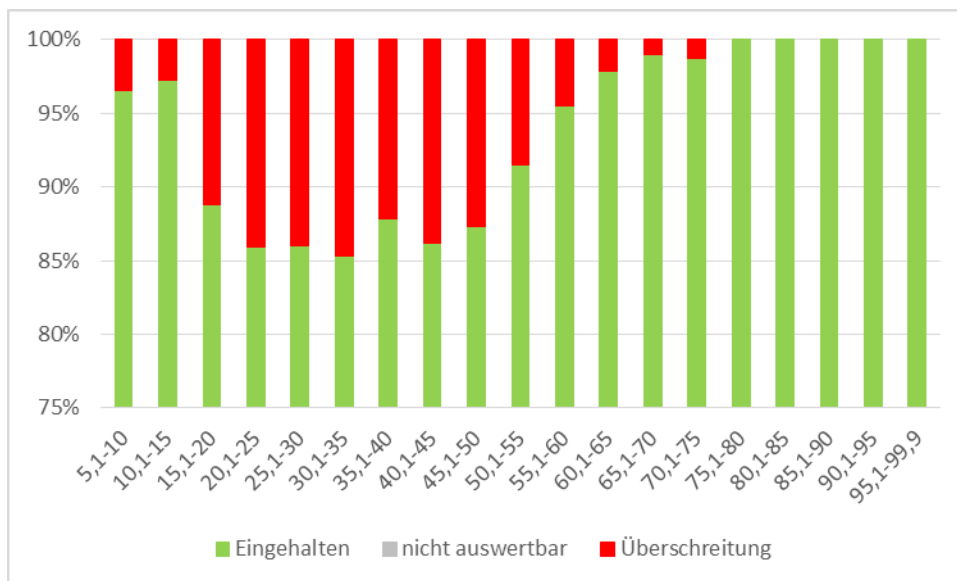


Abbildung 3: Technischer Maßnahmewert in Bezug zur max. erreichbaren Temperatur. In der Abbildung wird die Einhaltung bzw. Überschreitung des technischen Maßnahmewertes der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.

7.3 Temperatur bei der Probenahme

Analog zu den Daten der maximal erreichbaren Temperatur wurden die Daten hinsichtlich der ermittelten Temperatur bei der Probenahme gruppiert und in den Tabelle 9 und Tabelle 10 sowie in Abbildung 4 und Abbildung 6 dargestellt.

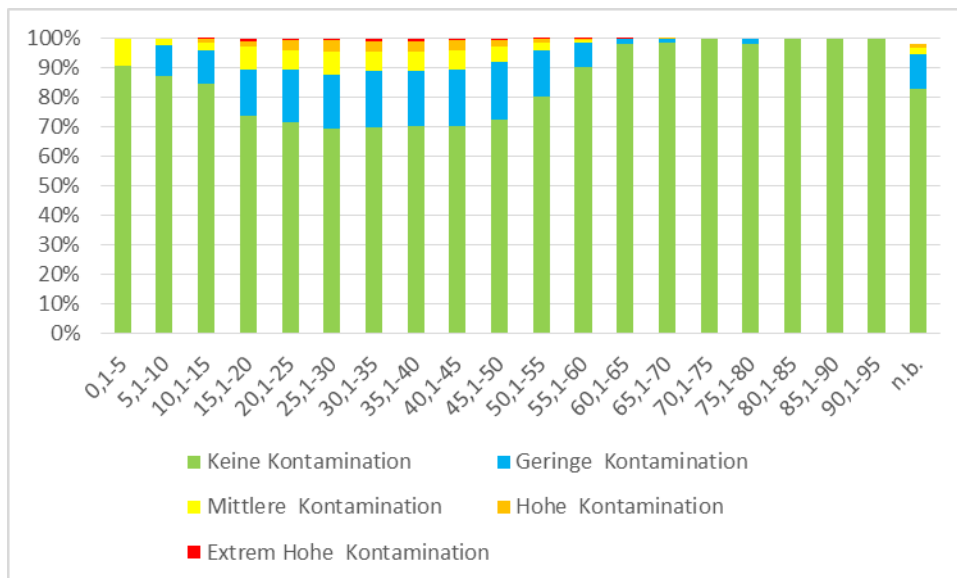


Abbildung 5

Abbildung 4: Kontamination nach DVGW W551 in Bezug auf die Temperatur bei der Probenahme. In der Abbildung wird die Kontamination der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

Temperaturbereich [°C]	Keine Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Geringe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Mittlere Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		Extrem hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
0,1 – 5	10	(90,91)	0	(0,00)	1	(9,09)	0	(0,00)	0	(0,00)
5,1 – 10	83	(87,37)	10	(10,53)	2	(2,11)	0	(0,00)	0	(0,00)
10,1 – 15	431	(84,51)	58	(11,37)	15	(2,94)	5	(0,98)	1	(0,20)
15,1 – 20	797	(73,66)	172	(15,90)	82	(7,58)	23	(2,13)	8	(0,74)
20,1 – 25	1.992	(71,68)	501	(18,03)	178	(6,41)	91	(3,27)	17	(0,61)
25,1 – 30	2.883	(69,45)	765	(18,43)	326	(7,85)	154	(3,71)	23	(0,55)
30,1 – 35	4.943	(70,07)	1.337	(18,95)	463	(6,56)	256	(3,63)	55	(0,78)
35,1 – 40	7.294	(70,43)	1.943	(18,76)	685	(6,61)	357	(3,45)	75	(0,72)
40,1 – 45	10.959	(70,21)	3.03	(19,41)	1.017	(6,52)	496	(3,18)	106	(0,68)
45,1 – 50	17.676	(72,73)	4.681	(19,26)	1.332	(5,48)	518	(2,13)	95	(0,39)
50,1 – 55	26.778	(80,15)	5.276	(15,79)	971	(2,91)	316	(0,95)	66	(0,20)
55,1 – 60	22.364	(90,37)	2.007	(8,11)	273	(1,10)	93	(0,38)	9	(0,04)
60,1 – 65	8.231	(98,07)	141	(1,68)	13	(0,15)	7	(0,08)	1	(0,01)
65,1 – 70	1.67	(98,64)	19	(1,12)	3	(0,18)	1	(0,06)	0	(0,00)
70,1 – 75	346	(100,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)
75,1 – 80	59	(98,33)	1	(1,67)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)
80,1 – 85	8	(100,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)
85,1 – 90	1	(100,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)
90,1 – 95	1	(100,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)
nicht bestimmt	394	(83,12)	55	(11,60)	11	(2,32)	5	(1,05)	0	(0,00)

Tabelle 9: Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Proben wurden auf Grund der Temperatur bei der Probenahme in die Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil im jeweiligen Temperaturbereich aufgelistet.

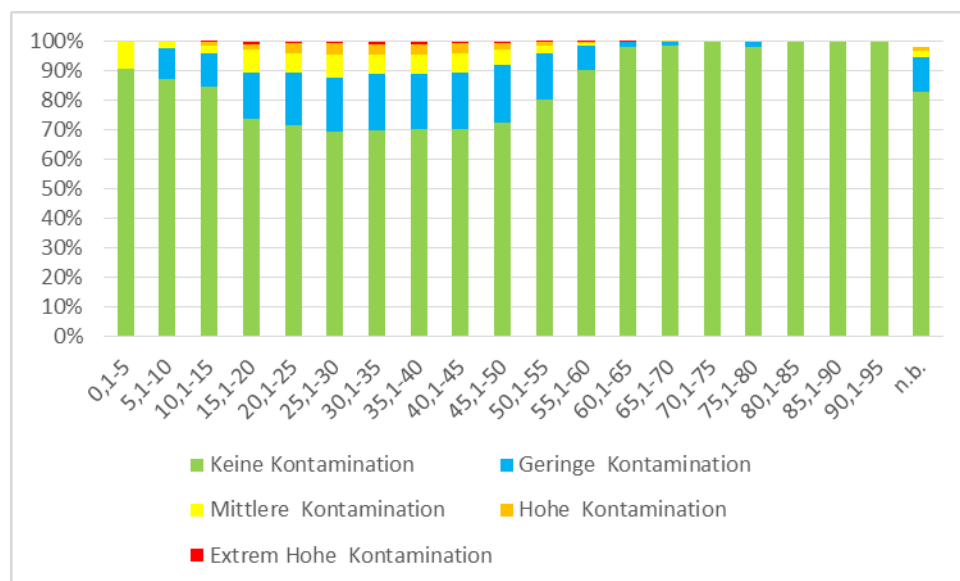


Abbildung 5: Technischer Maßnahmewert in Bezug zur Temperatur bei der Probenahme. In der Abbildung wird die Kontamination der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

Temperaturbereich [°C]	Techn. Maßnahmewert eingehalten		Techn. Maßnahmewert nicht eingehalten	
	[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
0,1 – 5	10	(90,91)	1	(9,09)
5,1 – 10	93	(97,9)	2	(2,11)
10,1 – 15	489	(95,88)	21	(4,12)
15,1 – 20	969	(89,56)	113	(10,44)
20,1 – 25	2.493	(89,71)	286	(10,29)
25,1 – 30	3.648	(87,88)	503	(12,12)
30,1 – 35	6.28	(89,03)	774	(10,97)
35,1 – 40	9.238	(89,20)	1.116	(10,78)
40,1 – 45	13.989	(89,63)	1.619	(10,37)
45,1 – 50	22.357	(92,00)	1.945	(8,00)
55,1 – 60	24.371	(98,48)	375	(1,52)
60,1 – 65	8.372	(99,75)	21	(0,25)
65,1 – 70	1.689	(99,76)	4	(0,24)
70,1 – 75	346	(100,00)	0	(0,00)
75,1 – 80	60	(100,00)	0	(0,00)
80,1 – 85	8	(100,00)	0	(0,00)
85,1 – 90	1	(100,00)	0	(0,00)
90,1 – 95	1	(100,00)	0	(0,00)
nicht bestimmt	458	(96,62)	16	(3,38)

Tabelle 10: Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Proben wurden in Hinblick auf die Temperatur bei der Probenahme in Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil für den jeweiligen Temperaturbereich dargestellt.

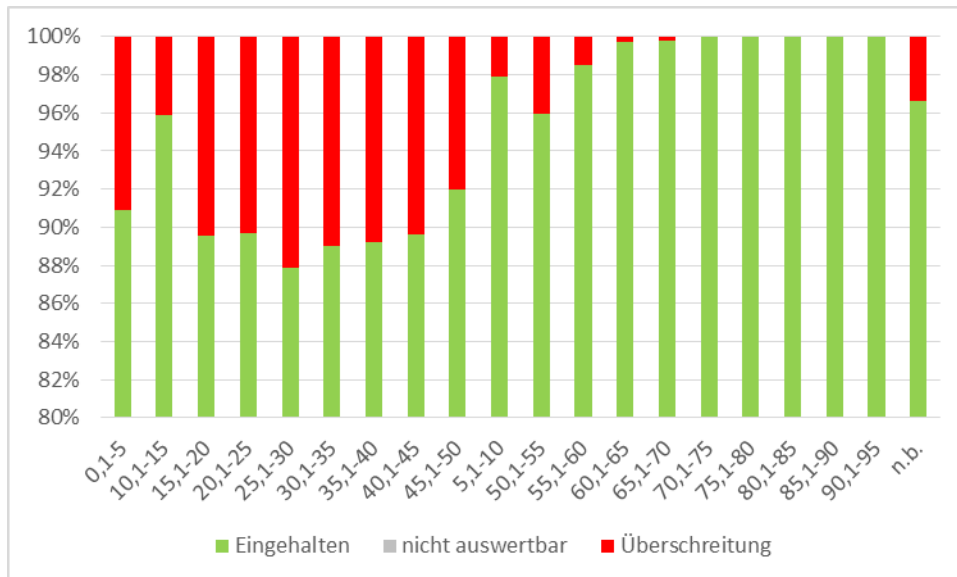


Abbildung 6: Technischer Maßnahmewert in Bezug zur Temperatur bei der Probenahme. In der Abbildung wird die Einhaltung bzw. Überschreitung des technischen Maßnahmewertes der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.

7.4 Temperaturdifferenz

Um die Auswirkungen von der Abweichung der Temperatur bei der Probenahme von der maximal erreichbaren Temperatur zu untersuchen, wurde die Differenz zwischen den Temperaturen gebildet und diese Differenz in 2 K-Schritten gruppiert:

$$\Delta T = T_{\text{max. erreichbar}} - T_{\text{bei Probenahme}}$$

Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 und Tabelle 12 dargestellt und zur Übersichtlichkeit in Abbildung 7 und Abbildung 8 visualisiert.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

Temperaturbereich ΔT [K]	Keine Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Geringe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Mittlere Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	Extrem hohe Kontamination [Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]
<-10	62 (68,13)	19 (20,88)	7 (7,69)	3 (3,30)	0 (0,00)
-10 bis -8,1	42 (82,35)	6 (11,76)	2 (3,92)	1 (1,96)	0 (0,00)
-8 bis -6,1	66 (84,62)	9 (11,54)	2 (2,56)	1 (1,28)	0 (0,00)
-6 bis -4,1	85 (75,22)	24 (21,24)	3 (2,65)	1 (0,88)	0 (0,00)
-4 bis -2,1	184 (82,88)	29 (13,06)	4 (1,80)	2 (0,90)	3 (1,35)
-2 bis -0,1	835 (85,55)	103 (10,55)	27 (2,77)	7 (0,72)	4 (0,41)
0 – 1,9	34.163 (85,76)	4.331 (10,87)	945 (2,37)	336 (0,84)	62 (0,16)
2 – 3,9	16.350 (80,51)	2.894 (14,25)	713 (3,51)	294 (1,45)	57 (0,28)
4 – 5,9	11.567 (77,25)	2.372 (15,84)	676 (4,51)	305 (2,04)	54 (0,36)
6 – 7,9	8.107 (75,69)	1.798 (16,79)	542 (5,06)	211 (1,97)	53 (0,49)
8 – 9,9	6.227 (74,41)	1.491 (17,82)	407 (4,86)	208 (2,49)	36 (0,43)
10 – 11,9	4.849 (73,60)	1.201 (18,23)	363 (5,51)	151 (2,29)	24 (0,36)
12 – 13,9	3.868 (73,30)	948 (17,96)	305 (5,78)	126 (2,39)	29 (0,55)
14 – 15,9	3.121 (71,95)	841 (19,39)	238 (5,49)	112 (2,58)	26 (0,60)
16 – 17,9	2.581 (71,89)	681 (18,97)	206 (5,74)	107 (2,98)	14 (0,39)
18 – 19,9	2.231 (73,03)	569 (18,63)	165 (5,40)	75 (2,45)	15 (0,49)
20 – 21,9	2.043 (74,43)	486 (17,70)	134 (4,88)	71 (2,59)	11 (0,40)
24 – 25,9	3.132 (72,70)	773 (17,94)	234 (5,43)	129 (2,99)	40 (0,93)
26 – 27,9	1.138 (74,14)	251 (16,35)	104 (6,78)	36 (2,35)	6 (0,39)
28 – 29,9	989 (76,96)	203 (15,80)	59 (4,59)	29 (2,26)	5 (0,39)
>30	2.444 (76,73)	519 (16,30)	143 (4,49)	69 (2,17)	10 (0,31)
nicht bestimmt	2.836 (82,42)	457 (13,28)	93 (2,70)	48 (1,39)	7 (0,20)

Tabelle 11: Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Bei den Proben wurden die Differenz zwischen der Temperatur bei der Probenahme und der max. erreichbaren Temperatur gebildet. Die Differenz wurde in die entsprechenden Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl der Proben und deren prozentualer Anteil je Kontamination angegeben.

7 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

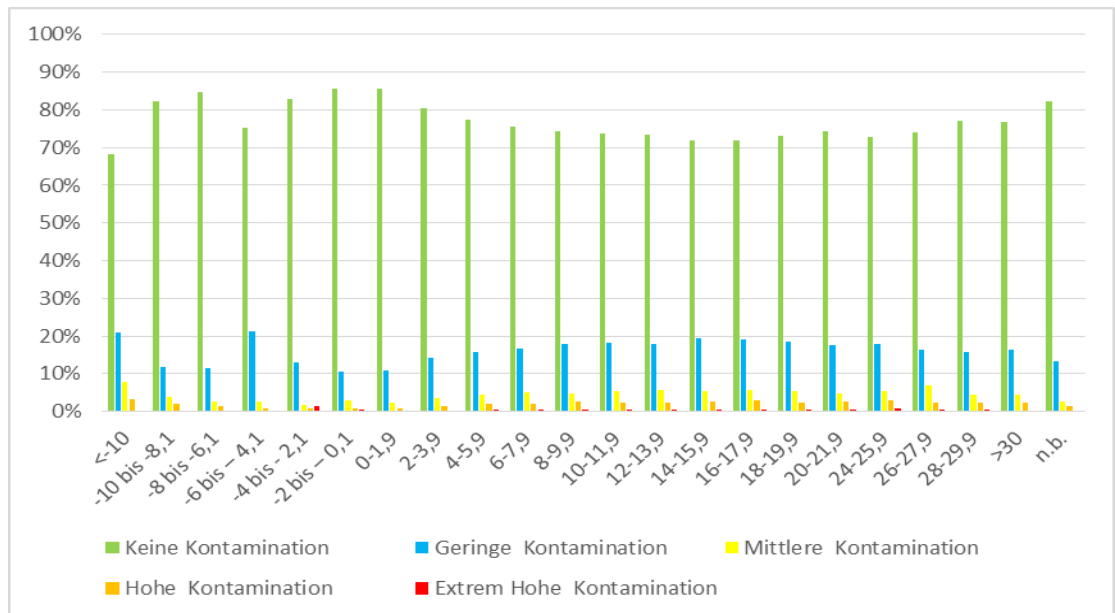


Abbildung 7: Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Die nach Temperaturbereichen gruppierten Probenzahlen je Kontamination wurden hier dargestellt. Proben ohne Kontamination wurden nicht dargestellt.

Temperaturbereich ΔT [K]	Techn. Maßnahmewert eingehalten		Techn. Maßnahmewert nicht eingehalten	
	[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]		[Anzahl der Entnahmestellen (Anteil in %)]	
<-10	81	(89,01)	10	(10,99)
-10 bis -8,1	48	(94,12)	3	(5,88)
-8 bis -6,1	75	(96,15)	3	(3,85)
-6 bis -4,1	109	(96,46)	4	(3,54)
-4 bis -2,1	213	(95,95)	9	(4,05)
-2 bis -0,1	938	(96,11)	38	(3,89)
0 – 1,9	38.494	(96,63)	1.343	(3,37)
2 – 3,9	19.244	(94,76)	1.064	(5,24)
4 – 5,9	13.939	(93,09)	1.035	(6,91)
6 – 7,9	9.905	(92,48)	806	(7,52)
8 – 9,9	7.718	(92,22)	651	(7,78)
10 – 11,9	6.05	(91,83)	538	(8,17)
12 – 13,9	4.816	(91,26)	460	(8,72)
14 – 15,9	3.963	(91,36)	375	(8,64)
16 – 17,9	3.262	(90,86)	327	(9,11)
18 – 19,9	2.8	(91,65)	255	(8,35)
20 – 21,9	2.529	(92,13)	216	(7,87)
24 – 25,9	3.905	(90,65)	403	(9,35)
26 – 27,9	1.389	(90,49)	146	(9,51)
28 – 29,9	1.192	(92,76)	93	(7,24)
>30	2.963	(93,03)	222	(6,97)
nicht bestimmt	3.293	(95,70)	148	(4,30)

Tabelle 12: Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Bei den Proben wurden die Differenz zwischen der Temperatur bei der Probenahme und der

max. erreichbaren Temperatur gebildet. Die Differenz wurde in die entsprechenden Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl der Proben und deren prozentualer Anteil je Kontamination angegeben.

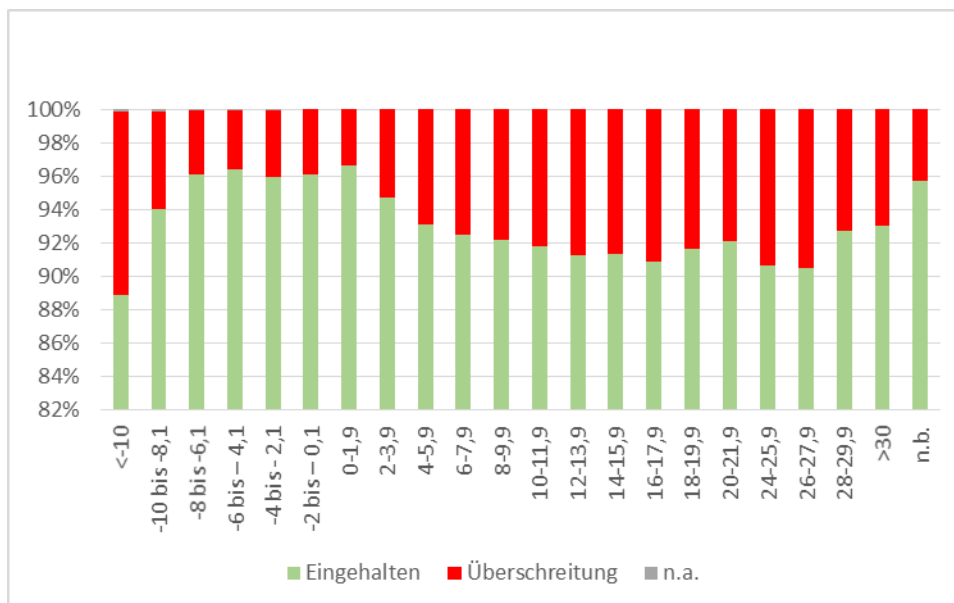


Abbildung 8: Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Die nach Temperaturbereichen gruppierten Probenzahlen wurden hier dargestellt.

8 Vorkommen von verschiedenen *L. spp.* in Hausinstallationen

Nach Bestätigung der Gleichwertigkeit von der biochemischen Bestätigung über die Cystein-Abhängigkeit und den MALDI-Biotyper erlaubt die Massenspektroskopie eine schnelle und kostengünstige Identifikation über eine große Anzahl von Proben.

Mit der in Kapitel 6.4 vorgestellten Methode wurden deshalb aus 15.300 Proben insgesamt 47.924 Kolonien mittels MALDI-Biotyper getestet. 37.477 Kolonien stammen aus dem 100 mL Ansatz (Membranfiltration) und 10.447 Kolonien aus dem 1 mL Ansatz.

Für die Identifizierung wurde das Auswerteschema des Geräteherstellers (Bruker) zu Grunde gelegt. Bei diesem Schema werden Identifikationen mit einem Score >1.900 als sichere Identifikation von Gattung und Spezies angegeben. Liegen die Ergebnisse zwischen 1.700 und 1.900 ist die Gattung sicher identifiziert, aber bei der Spezies wird nur die beste Übereinstimmung angegeben. Dieser Fall wurde berücksichtigt, in dem das Ergebnis als *L. spp.* (beste Übereinstimmung) z. B. *L. spp. (L. pneumophila)* in der Auswertung angegeben wurde.

Die Ergebnisse der Identifizierung sind in der Tabelle 13 dargestellt.

Bakterium	Gesamtzahl der identifizierten Kolonien		Kolonien aus 100 mL Ansatz		Kolonien aus 1 mL Ansatz	
	[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]		[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]		[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]	
<i>L. pneumophila</i>	29.754	(62,01)	24.109	(64,25)	5.645	(53,98)
<i>L. spp. (L. pneumophila)</i>	10.480	(21,84)	7.540	(20,09)	2.940	(28,11)
<i>L. anisa</i>	4.307	(8,98)	3.087	(8,23)	1.220	(11,67)
<i>L. taurinensis</i>	1.044	(2,18)	934	(2,49)	110	(1,05)
<i>L. spp. (L. anisa)</i>	757	(1,58)	520	(1,39)	237	(2,27)
<i>L. londiniensis</i>	627	(1,31)	498	(1,33)	129	(1,23)
<i>L. spp. (L. taurinensis)</i>	329	(0,69)	286	(0,76)	43	(0,41)
<i>L. spp. (L. gormanii)</i>	106	(0,22)	70	(0,19)	36	(0,34)
<i>L. dumoffii</i>	67	(0,14)	53	(0,14)	14	(0,13)
<i>L. spp. (L. rubrilucens)</i>	67	(0,14)	64	(0,17)	3	(0,03)
<i>L. rubrilucens</i>	58	(0,12)	47	(0,13)	11	(0,11)
<i>L. gormanii</i>	48	(0,10)	37	(0,10)	11	(0,11)
<i>L. erythra</i>	26	(0,05)	25	(0,07)	1	(0,01)
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	11	(0,04)	18	(0,05)	0	(0,00)
<i>Acinetobacter ursingii</i>	18	(0,04)	18	(0,05)	0	(0,00)
<i>Acinetobacter junii</i>	16	(0,03)	9	(0,02)	7	(0,07)
<i>L. spp. (L. bozemanae)</i>	16	(0,03)	9	(0,02)	7	(0,07)
<i>L. spp. (L. parisiensis)</i>	11	(0,02)	9	(0,02)	2	(0,02)
<i>Staphylococcus hominis</i>	11	(0,02)	9	(0,02)	2	(0,02)
<i>Delftia acidovorans</i>	9	(0,02)	4	(0,01)	5	(0,05)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	(0,02)	9	(0,02)	0	(0,00)

Bakterium	Gesamtzahl der identifizierten Kolonien		Kolonien aus 100 mL Ansatz		Kolonien aus 1 mL Ansatz	
	[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]		[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]		[Anzahl der Kolonien (Anteil in %)]	
<i>Ochrobactrum sp[3]</i>	8	(0,02)	8	(0,02)	0	(0,00)
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	7	(0,01)	7	(0,02)	0	(0,00)
<i>L. jamestowniensis</i>	7	(0,01)	7	(0,02)	0	(0,00)
<i>L. spp (L. santicrucis)</i>	7	(0,01)	5	(0,01)	2	(0,02)
<i>Bacillus cereus</i>	6	(0,01)	2	(0,01)	4	(0,04)
<i>Brevibacterium casei</i>	6	(0,01)	6	(0,02)	0	(0,00)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	(0,01)	1	(0,00)	4	(0,04)
<i>Pseudomonas monteilli</i>	4	(0,01)	0	(0,00)	4	(0,04)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	(0,01)	3	(0,01)	1	(0,01)
<i>L. spp (L. erythra)</i>	3	(0,01)	3	(0,01)	0	(0,00)
<i>L. feeleii</i>	2	(0,00)	2	(0,01)	0	(0,00)
<i>L. geestiana</i>	2	(0,00)	2	(0,01)	0	(0,00)
<i>Microbacterium oxydans</i>	2	(0,00)	2	(0,01)	0	(0,00)
<i>Acinetobacter parvus</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Aeromonas salmonicida</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Elizabethkingia miricola</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Lactobacillus sakei</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Microbacterium aurum</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Microbacterium liquefaciens</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Microbacterium maritopicum</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Serratia proteamaculans</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	(0,00)	0	(0,00)	1	(0,01)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	(0,00)	1	(0,00)	0	(0,00)

Tabelle 13: Ergebnisse der Identifizierung

Zur besseren Veranschaulichung wurden die Ergebnisse für die Anteile der verschiedenen *L. spp.* in Abbildung 9 dargestellt. Sofort fallen die dominierenden Arten *L. pneumophila*, *L. anisa*, *L. sp* wahrscheinlich *pneumophila* und *L. sp.* wahrscheinlich *anis* auf.

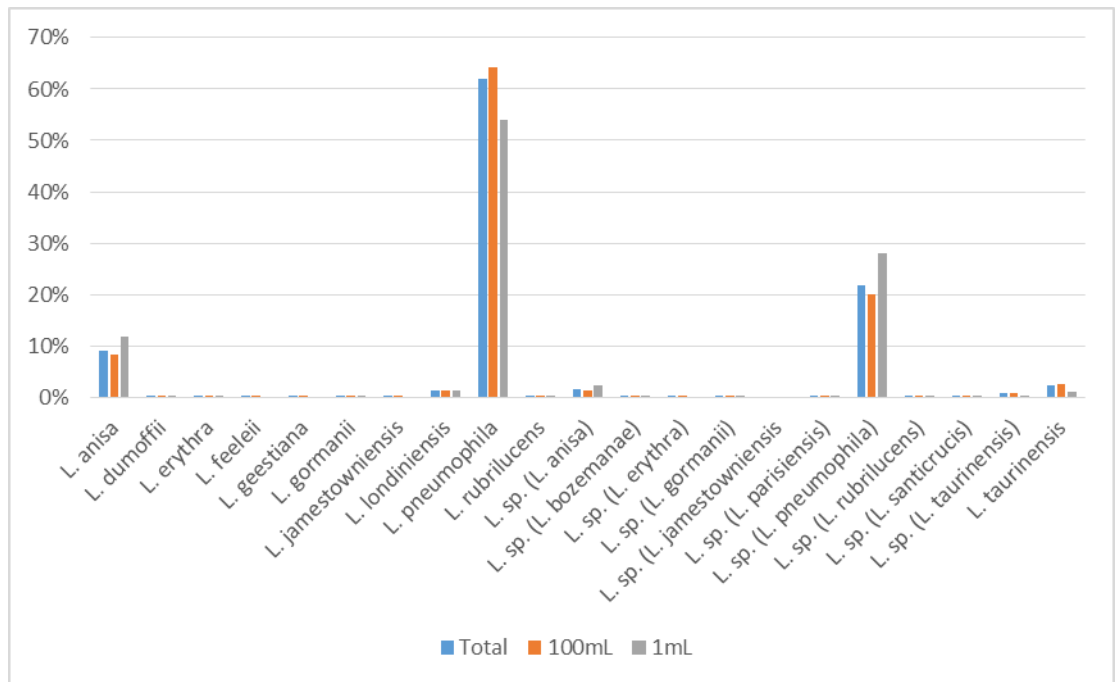


Abbildung 9: Prozentuale Verteilung der Legionellen in Hausinstallationen

Der hohe Anteil verdeckt in der Grafik die Verteilung der weiteren *L. spp.* und macht eine Analyse der weiteren Spezies unmöglich. Aus diesem Grund wurde in Abbildung 10 die Legionellen ohne *L. pneumophila* und *L. anisa* dargestellt.

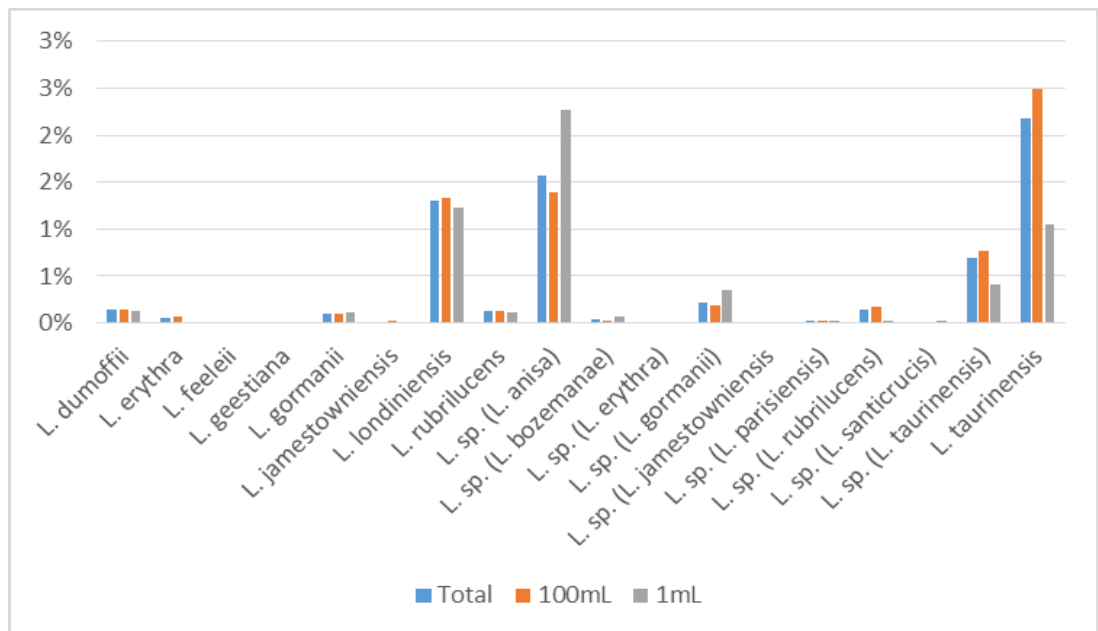


Abbildung 10: Prozentuale Verteilung der NON-*L. pneumophila* und NON-*L. anisa* Legionellen in Hausinstallationen

Neben den Legionellen konnte auch die Begleitflora mit dem MALDI-TOF identifiziert werden. Die Anzahl der jeweils gefunden Kolonien ist nach Ansatz getrennt in der Abbildung 11 visualisiert.

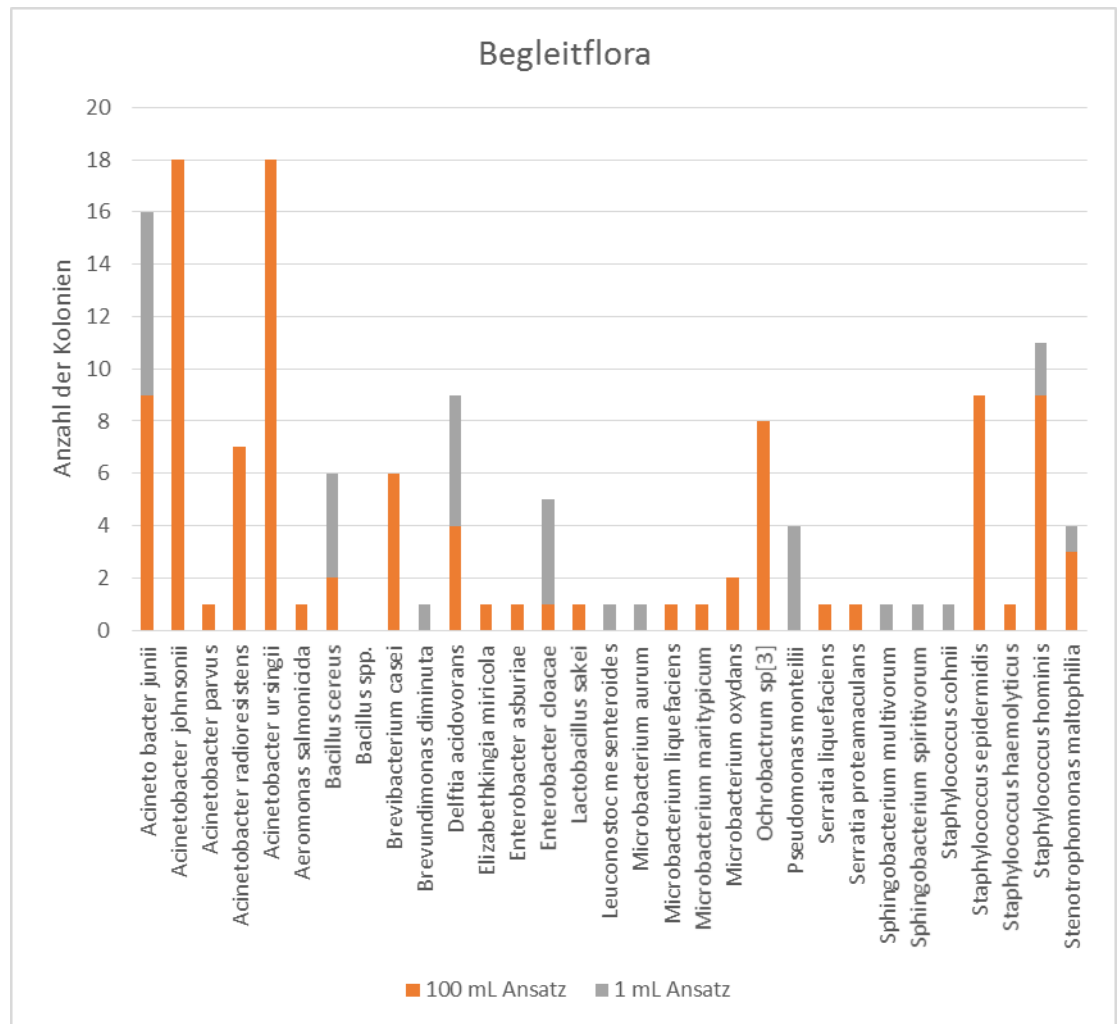


Abbildung 11: Anzahl der Kolonien der gefundenen Begleitflora

9 Diversität der *L. spp.* in Hausinstallationen

Die Auswertung Kapitel 8 „Vorkommen von verschiedenen *L. spp.* in Hausinstallationen“ zeigt, dass in süddeutschen Warmwasseranlagen 14 verschiedene *L. sp.* zu finden sind. Diese Tatsache führt sofort zu der Frage, ob in einer Hausinstallation immer nur eine Spezies vorkommt oder ob hier mehrere Spezies zu finden sind. Falls mehrere Spezies vorkommen, wie viele verschiedene Spezies sind dann zu finden?

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurde zunächst der Datensatz vereinfacht, in dem die identifizierten Spezies mit den wahrscheinlichsten Spezies zusammenfasst wurden. Anschließend wurde bei 3.470 Warmwasserversorgungen geprüft, wie viele verschiedene Legionellenarten aus diesen isoliert wurden. Die Daten sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

Anzahl der verschiedenen <i>L. spezies</i> [Anzahl]	Anzahl der Hausinstallation [Anzahl]	Relative Verteilung [%]
1	3.050	87,9
2	381	11,0
3	36	1,0
4	3	0,1

Tabelle 14: Anzahl der verschiedenen Legionellen je Hausinstallation

Bei den meisten Installationen (87,9 %) konnte jeweils nur eine Legionellen-Art isoliert werden. Bei Insgesamt 11 % der Anlagen konnten 2 verschiedene Legionellen-Arten gefunden werden. 4 verschiedene Arten in einer Anlage stellte das Maximum dar und war mit 0,1 % auch die Ausnahme.

10 Vorkommen und Verteilung von *L. spp.* in Süddeutschland

Die konsequente Identifizierung der Legionellen ergab, dass in Süddeutschland 14 verschiedene Legionellen-Arten gefunden werden konnten. (Vergleiche Kapitel 8 „Vorkommen von verschiedenen *L. spp.* in Hausinstallationen“). Um zu untersuchen, in wieweit die Legionellen regional verbreitet sind, wurden die identifizierten Kolonien entsprechend der Postleitzahlen der Zapfstellen geordnet. Zur Vereinfachung wurden auch hier die wahrscheinlichsten Arten der entsprechenden Spezies zugeordnet.

Bei Berücksichtigung der gesamten Postleitzahl war allerdings die Stichprobe zu klein, um eine Aussage treffen zu können. Aus diesem Grund wurden Postleitzahlenbereiche mit den ersten beiden gleichen Ziffern zusammengefasst und ausgewertet. Hierbei wurden nur Postleitzahlenbereiche mit 50 positiven Proben und 5 verschiedenen Installationen berücksichtigt. Die Regionen, die diese Anforderungen erfüllen, sind in der Abbildung 12 dargestellt.

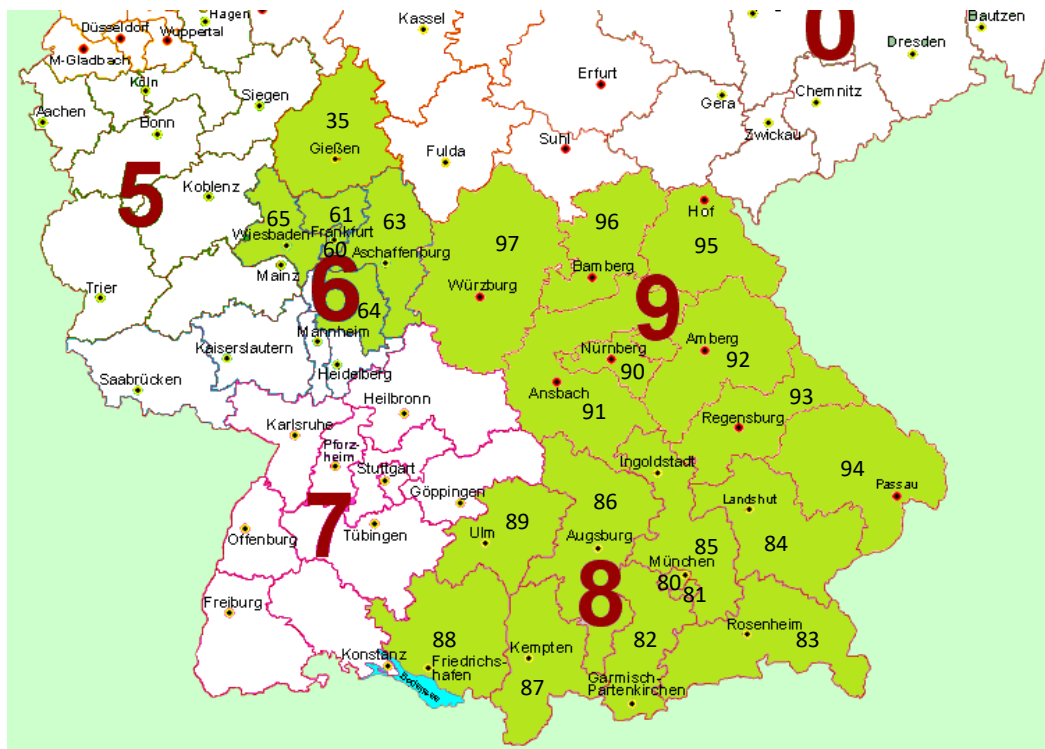


Abbildung 12: Postleitzahlregionen, welche die Anforderungen erfüllen und zur näheren Betrachtung herangezogen wurden.

In allen Regionen konnte *L. pneumophila* nachgewiesen werden. Ebenso war der Nachweis von *L. anisa* fast in allen Regionen möglich. (vgl. Abbildung 13)

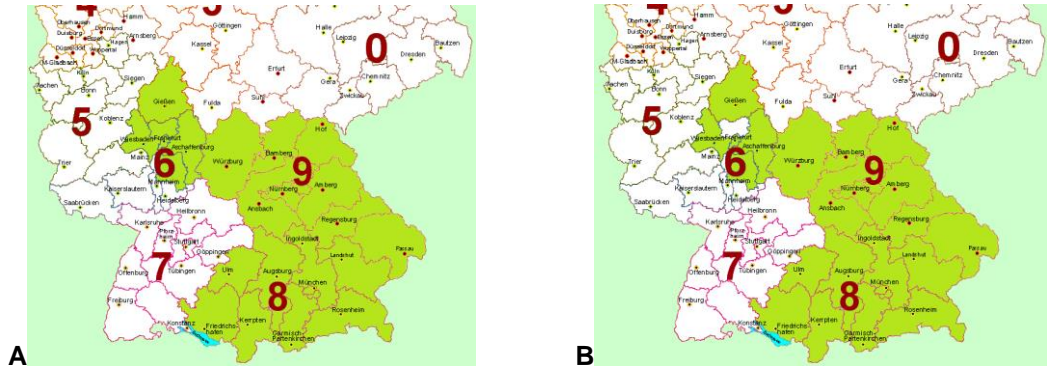


Abbildung 13: Regionen mit A) *L. pneumophila* und B) *L. anisa*

Eine weite Verbreitung haben auch *L. tauriensis* (bis zu 13,5 %) und *L. rubiculens* (bis zu 6,5 % je nach Region). Das Vorkommen ist in Abbildung 14: Verbreitung von A) *L. tauriensis* B) *L. rubiculens* visualisiert.

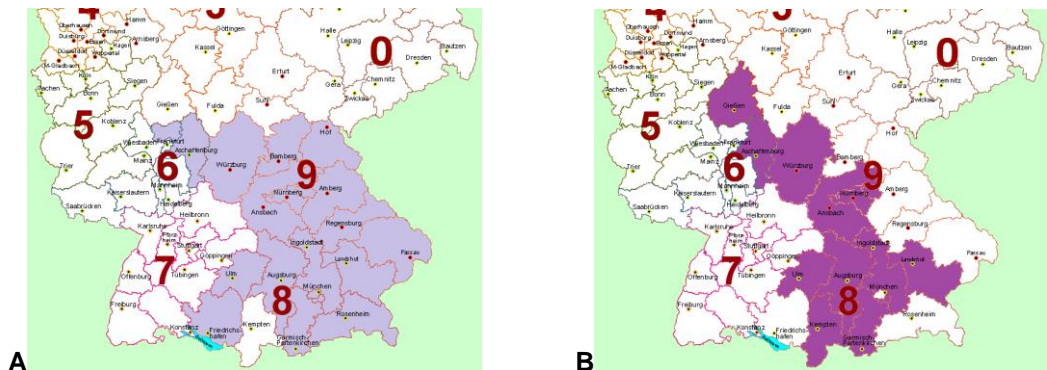


Abbildung 14: Verbreitung von A) *L. tauriensis* B) *L. rubiculens*

Die Gesamtzahl an Kolonien von *L. gormonii* und *L. londoniensis* war zwar deutlich geringer, als die Anzahl an *L. pneumophila*, trotzdem ist auch hier eine weiträumige Verbreitung zu erkennen (Abbildung 15).

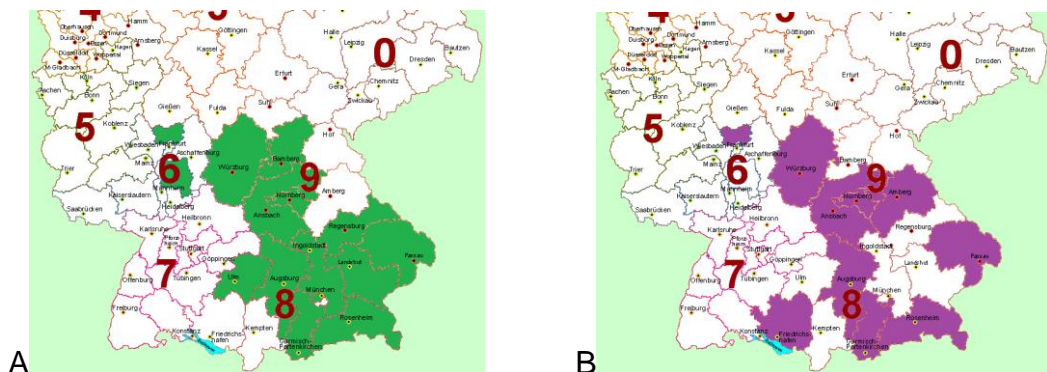


Abbildung 15: Verbreitung von A) *L. gormonii* B) *L. londoniensis*

Abbildung 16, Abbildung 17 und Abbildung 18 zeigen die Verbreitung der selteneren Legionellen, die mittels MALDI-TOF in den Regionen identifiziert wurden.

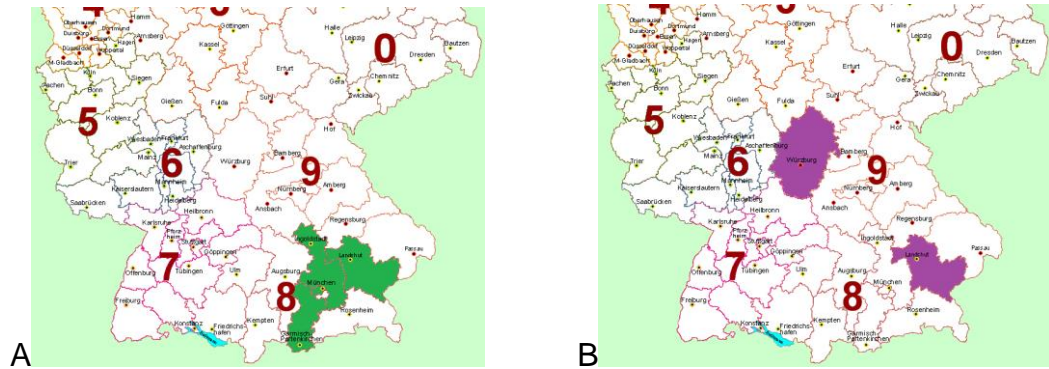


Abbildung 16: Verbreitung von A) *L. erythra* und B) *L. feeli*

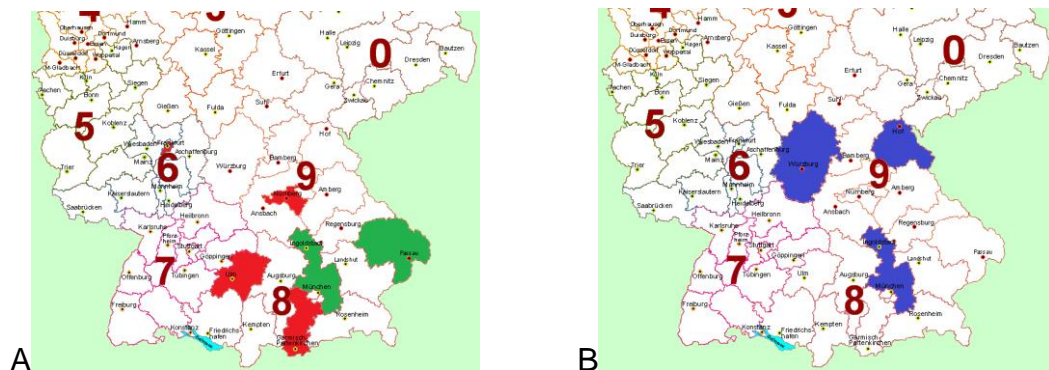


Abbildung 17: Verbreitung von A) *L. bozmani* in rot und *L. pariensis* in grün
B) *L. dumoffi*

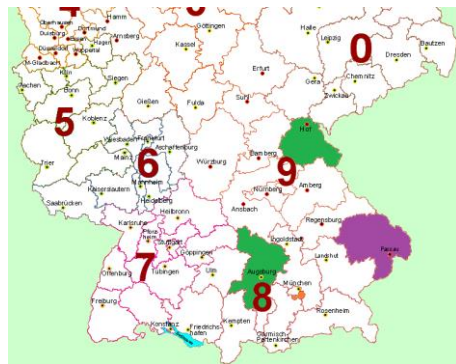


Abbildung 18: Verbreitung von *L. santicrusis* in orange, *L. jamestownii* in lila, *L. geestina* in grün

Die genauen prozentualen Verteilungen sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

In den definierten und zur Auswertung herangezogenen Postleitzahlregionen waren 10 – 25 % der untersuchten Proben positiv. Allein die Region 92 bildete hierbei mit einem Wert von unter 8,1 % eine Ausnahme. Bei der Einzelbetrachtung der Regionen zeigt sich deutlich, dass die Legionellen-diversität in den verschiedenen Regionen unterschiedlich ist. Dominant in allen Regionen sind *L. pneumophila* mit einem prozentualen Anteil 57,5 % bis zu 93,2 % gefolgt von *L. anisa* mit einem Anteil bis zu 40,1 % (siehe Abbildung 13: Regionen mit A) *L. pneumophila* und B) *L. anisa*).

PLZ	<i>L. anisa</i> [%]	<i>L. bozemanii</i> [%]	<i>L. dumoffii</i> [%]	<i>L. erythra</i> [%]	<i>L. feeleii</i> [%]	<i>L. geestiana</i> [%]	<i>L. gormanii</i> [%]	<i>L. jamestowniensis</i> [%]	<i>L. londiniensis</i> [%]	<i>L. parisiensis</i> [%]	<i>L. pneumophila</i> [%]	<i>L. rubrilucens</i> [%]	<i>L. santacrucis</i> [%]	<i>L. taurinensis</i> [%]
35	27,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	70,4	2,6	0,0	0,0
60	40,1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	58,1	0,0	0,0	0,0
61	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	85,1	0,0	0,0	13,5
63	23,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	70,1	3,0	0,0	3,7
64	16,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	83,3	0,0	0,0	0,0
65	15,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	84,6	0,0	0,0	0,0
80	3,5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	93,2	0,0	0,0	3,1
81	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	90,5	0,1	0,1	2,9
82	12,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,6	0,0	0,1	0,0	81,7	1,0	0,0	4,4
83	7,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	90,1	0,0	0,0	1,9
84	13,3	0,0	0,0	0,7	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	83,9	0,1	0,0	1,8
85	12,5	0,0	0,4	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	79,8	0,2	0,0	6,6
86	14,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	2,3	0,0	78,4	0,1	0,0	4,4
87	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	91,7	6,5	0,0	0,0
88	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	38,8	0,0	57,5	0,0	0,0	0,7
89	23,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	70,1	0,1	0,0	5,6
90	10,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	6,5	0,0	81,0	0,1	0,0	1,4
91	9,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,2	0,0	86,5	0,1	0,0	2,8
92	37,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	62,1	0,0	0,0	0,0
93	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	75,3	0,0	0,0	8,8
94	6,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,8	0,1	0,2	91,5	0,0	0,0	0,8
95	8,2	0,0	1,2	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	85,3	0,0	0,0	4,1
96	7,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	91,2	0,0	0,0	1,1
97	12,8	0,0	1,5	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,8	0,0	82,3	0,2	0,0	1,7

Tabelle 15: Verteilung der Legionellen in verschiedenen Postleitzahlregionen

Die absoluten Zahlen sind im Anhang in Tabelle 67 zu sehen. Die Anzahl an positiven Proben weicht in den unterschiedlichen Gebieten stark voneinander ab. Mit steigender Zahl an positiven Proben wächst in der Regel auch die Wahrscheinlichkeit, dass seltenere Legionellen gefunden werden.

Der Vergleich der Diversität in den verschiedenen Regionen ist mit dem Shannon-Wiener-Index (H_s) möglich. Der Index ist in Tabelle 16 zusammengefasst. Neben dem Index sind auch weitere wichtige Kenngrößen zur Beurteilung der Diversität aufgeführt, wie die Anzahl (N) der Kolonien und die Anzahl (S) der verschiedenen Legionellen-Arten sowie die Gleichmäßigkeit (E).

Postleitzahlregion	Anzahl der identifizierten Kolonien (N)	Anzahl der verschiedenen Legionellenarten (S)	Shannon-Wiener-Index (H_s)	E
35	115	3	0,70	0,25
60	272	4	0,76	0,28
61	74	3	0,47	0,17
63	728	4	0,82	0,29
64	227	3	0,47	0,17
65	221	2	0,43	0,15
80	5.109	7	0,31	0,11
81	5.415	8	0,43	0,15
82	6.647	10	0,66	0,24
83	6.718	9	0,39	0,14
84	1.873	7	0,54	0,20
85	5.183	12	0,69	0,25
86	1.729	7	0,72	0,26
87	108	3	0,33	0,12
88	567	4	0,83	0,30
89	1.275	6	0,79	0,28
90	4.153	7	0,68	0,24
91	3.078	7	0,52	0,19
92	66	2	0,66	0,24
93	251	4	0,74	0,27
94	1.255	7	0,37	0,13
95	414	5	0,58	0,21
96	964	4	0,35	0,12
97	4.857	10	0,64	0,23

Tabelle 16: Übersicht Shannon-Wiener-Index für die jeweiligen Postleitzahlregionen
N = Anzahl der identifizierten Kolonien, S = Anzahl der verschiedenen Legionellen-Arten, H_s = Shannon-Wiener-Index und E = Gleichmäßigkeit

Mit den vorhandenen Faktoren kann $H_{\max} = 2,77$ annehmen und stellt dann die größt mögliche Diversität dar.

Der Shannon-Wiener Index reicht von 0,31 bis 0,83. Die Gleichmäßigkeit liegt zwischen 0,11 – 0,29.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Diversität trotz der unterschiedlichen Probenzahlen insgesamt sehr ähnlich ist. Die Anzahl der Proben scheint diese Ergebnisse nicht signifikant zu beeinflussen.

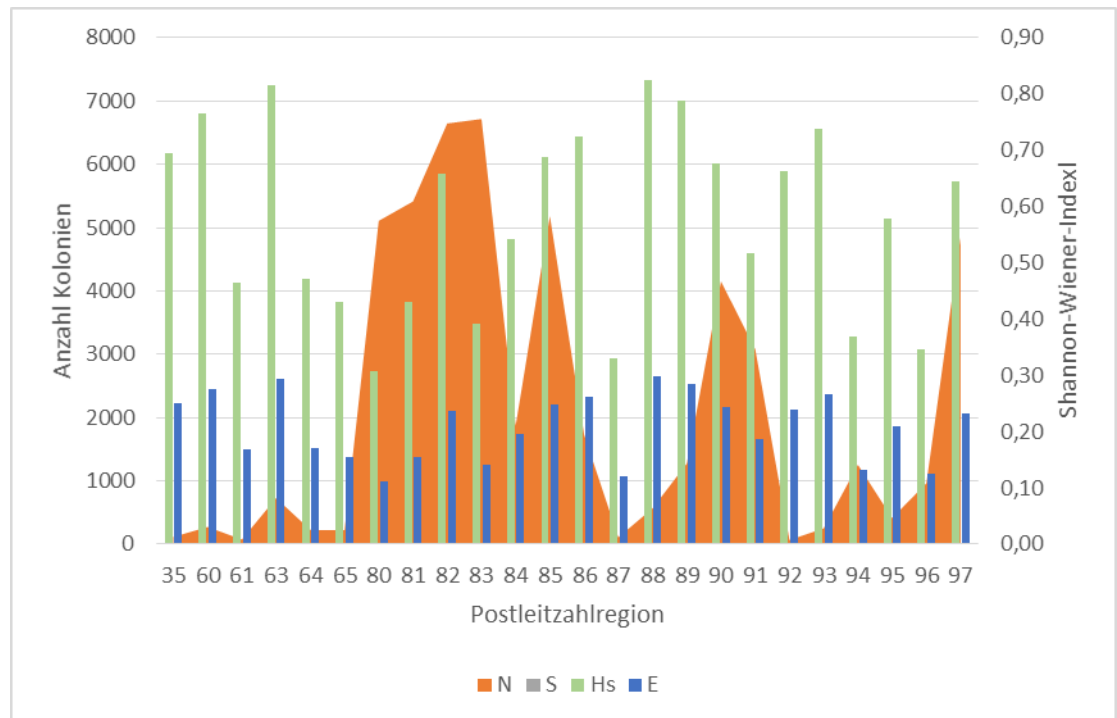


Abbildung 19: Darstellung der Probenzahl (N) in Orange für die Postleitzahlregionen gegen den Shannon-Wiener-Index.

11 Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten

Die regionale Auswertung war nur unter Berücksichtigung der ersten beiden Ziffern der jeweiligen Postleitzahl flächendeckend möglich. Eine Postleitzahlregion bildet einen verhältnismäßig großen Einzugsbereich ab. (vergl. Abbildung 12: Postleitzahlregionen, welche die Anforderungen erfüllen und zur näheren Betrachtung herangezogen wurden.)

Detailliertere Analysen über diesen Bereich sind schwierig, da das Wasser aus unterschiedlichen Wasserversorgungen mit unterschiedlichen Brunnen, Quellen, Aufbereitungen etc. stammt.

Zu einer genaueren Analyse wurden daher die Ballungsräume und Städte in Bayern betrachtet, um so möglichst genaue Informationen zu erhalten.

Für die größten Städte Bayerns wurden die einzelnen Postleitzahlgebiete ausgewertet und betrachtet. In der Auswertung wurden die folgenden Orte betrachtet:

Augsburg, Bamberg, Bayreuth, Dachau, Erding, Erlangen, Freising, Fürstenfeldbruck, Fürth, Garmisch-Partenkirchen, Gauting, Germering, Ingolstadt, Landsberg am Lech, Landshut, München, Neu-Ulm, Nürnberg, Passau, Regensburg, Rosenheim, Schweinfurt, Starnberg, Straubing und Weilheim.

Im ersten Schritt wurde die Legionellen-Belastung in der jeweiligen Ortschaft ermittelt und in Abbildung 20: Legionellen-Belastungen in verschiedenen Ortschaften dargestellt. Der Anteil der Proben ohne Kontamination wurde zur besseren Übersicht nicht dargestellt.

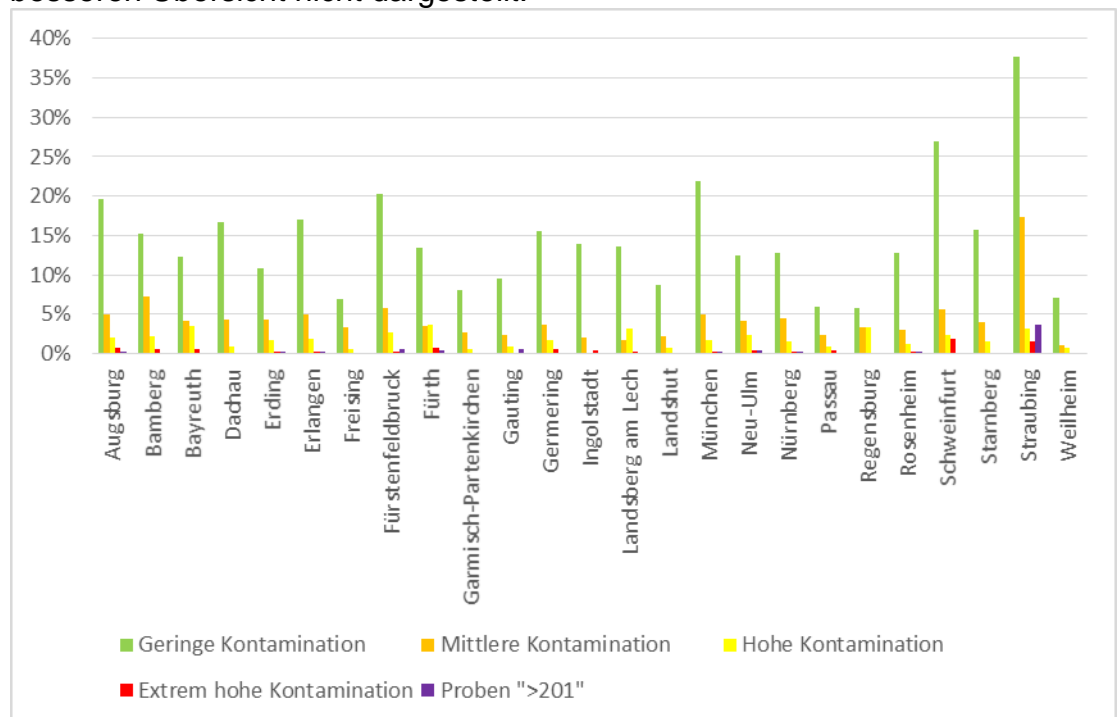


Abbildung 20: Legionellen-Belastungen in verschiedenen Ortschaften

Diese Auswertung veranschaulicht, dass die Legionellenbelastung in den verschiedenen Städten recht ähnlich ist. Straubing sticht hierbei mit einem hohen Anteil von kontaminierten Proben heraus. Hier ist weiterhin auffällig, dass bei einem verhältnismäßig hohen Anteil der Proben das Ergebnis >201 KbE/ 100 mL vorkam. Dieses Ergebnis entsteht gemäß UBA-Empfehlung dann, wenn der 100 mL Ansatz mit mehr als 200 Legionellen bewachsen ist und der 1 mL Ansatz auf Grund von Begleitflora nicht ausgewertet werden kann.

11.1 Augsburg

Die kreisfreie Stadt Augsburg hat 37.995 Gebäude mit 144.526 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 55,4 Jahren. 7 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 8 % per Etagenheizung, 2 % per Blockheizung, 74 % mittels Zentralheizung und 9 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Augsburg wurden 2,9 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 17 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlere Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
86150	44	244	84	40	44	24	12	4	-
86152	28	144	76	16	60	8	8	-	-
86153	44	352	124	44	80	24	16	4	-
86154	96	632	200	104	96	60	24	16	4
86156	12	88	8	8	-	8	-	-	-
86157	36	248	28	4	24	-	4	-	-
86159	20	520	292	48	252	24	12	4	-
86161	4	24	-	-	-	-	-	-	-
86163	36	172	24	8	16	8	-	-	-
86165	20	132	4	-	4	-	-	-	-
86167	20	100	-	-	-	-	-	-	-
86169	20	124	16	4	12	4	-	-	-
86179	28	708	112	16	96	16	-	-	-
86199	36	344	84	16	68	12	4		
Stadtgebiet	444	3.832	1052	308	752	188	80	28	4

Tabelle 17: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Augsburg

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 18 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. pneumophila</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
86150	0	0	75	63	44	37
86152	0	0	90	100	0	0
86153	0	0	76	49	79	51
86154	7	3	119	43	150	54
86156	0	0	11	100	0	0
86157	0	0	26	84	5	16
86159	15	4	50	14	287	82
86161	0	0	0	0	0	0
86163	0	0	28	100	0	0
86165	0	0	0	0	5	100
86167	0	0	0	0	0	0
86169	2	15	11	85	0	0
86179	0	0	43	34	84	66
86199	0	0	29	35	54	65
Augsburg	24	2	558	43	708	55

Tabelle 18: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Augsburg.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 21 dargestellt.

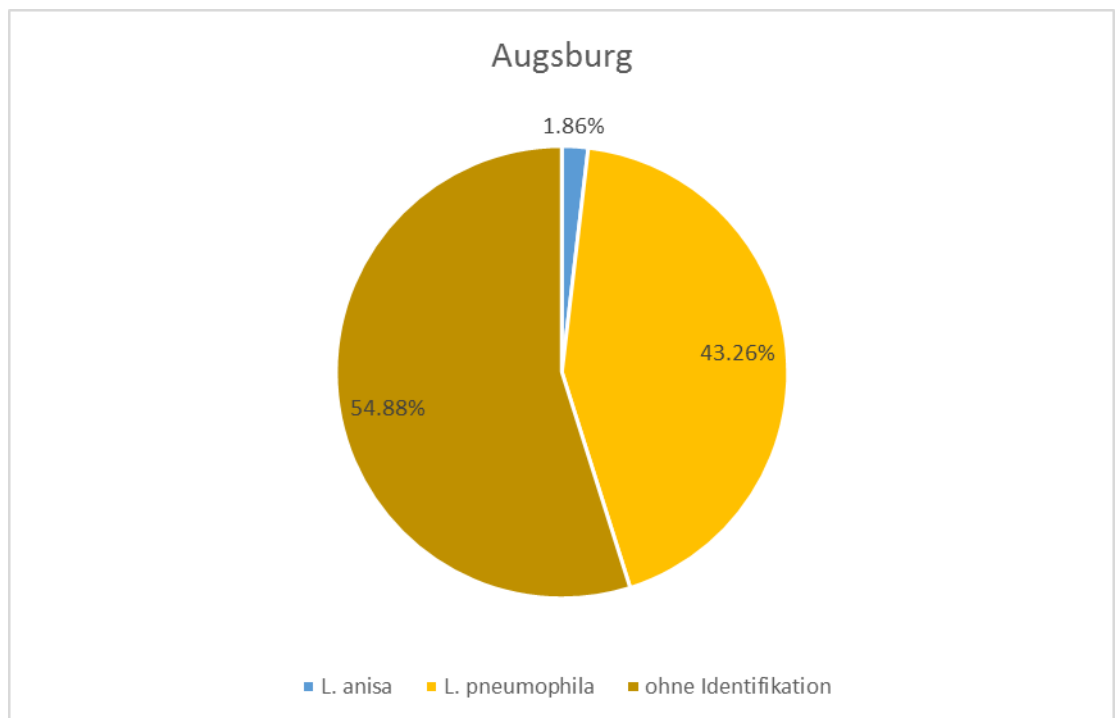


Abbildung 21 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Augsburg

11.2 Bamberg

Die kreisfreie Stadt Bamberg hat 13.020 Gebäude mit 41.138 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 72,7 Jahren. 5 % der Gebäude

werden mit Fernwärme, 16 % per Etagenheizung, 2 % per Blockheizung, 69 % mittels Zentralheizung und 8 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Bamberg wurden 0,9 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 19 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
96047	128	812	120	12	108	12	-	-	-
96049	80	464	212	144	68	92	40	12	-
96050	24	440	156	32	124	24	8	-	-
96052	92	436	56	28	28	28	-	-	-
Gesamtergebnis	324	2.152	544	216	328	156	48	12	-

Tabelle 19: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Bamberg

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 20 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. gormanii		L. pneumophila		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
96047	15	12	0	0	100	79	11	9
96049	0	0	0	0	302	90	35	10
96050	5	3	0	0	146	97	0	0
96052	3	4	3	4	32	43	36	49
Bamberg	23	3	3	0	580	84	82	12

Tabelle 20: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Bamberg.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 22 dargestellt.

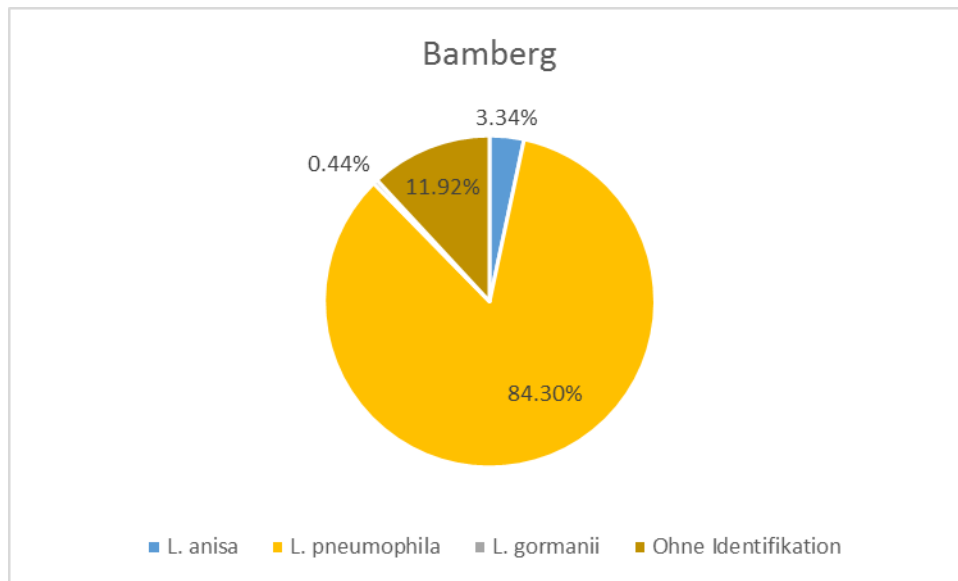


Abbildung 22: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bamberg

11.3 Bayreuth

Die kreisfreie Stadt Bayreuth hat 13.498 Gebäude mit 40.216 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 52,6 Jahren. 3 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 8 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 77 % mittels Zentralheizung und 11 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Bayreuth wurden 4,5 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 21 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
95444	20	92	-	-	-	-	-	-	-
95445	4	48	-	-	-	-	-	-	-
95447	4	20	-	-	-	-	-	-	-
95448	68	520	140	56	84	28	24	4	-
Gesamtergebnis	96	680	140	56	84	28	24	4	-

Tabelle 21: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Bayreuth

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 22 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. pneumophila		L. taurinensis		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
95444	0	0	0	0	0	0
95445	0	0	0	0	0	0
95447	0	0	0	0	0	0
95448	84	46	17	9	81	45
Bayreuth	84	46	17	9	81	45

Tabelle 22: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Bayreuth.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 23 dargestellt.

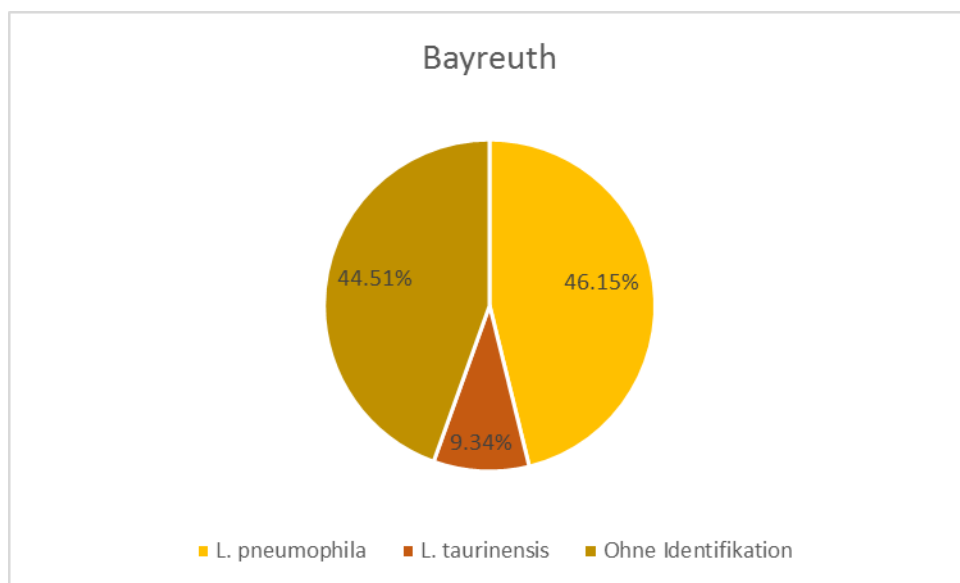


Abbildung 23: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bayreuth

11.4 Erlangen

Die kreisfreie Stadt Erlangen hat 19.006 Gebäude mit 60.011 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 48,7 Jahren. 10 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 4 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 79 % mittels Zentralheizung und 6 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011).

In Erlangen wurden 2,7 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 23 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmehwert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
91052	180	1.780	412	96	320	76	8	4	-
91054	164	908	244	108	136	72	36	-	-
91056	176	936	260	88	172	64	16	8	-
91058	124	800	152	28	124	4	20	-	4
Gesamtergebnis	644	4.424	1.068	320	752	216	80	12	4

Tabelle 23: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Erlangen

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 24 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. gormanii</i>		<i>L. londoniensis</i>		<i>L. pneumophila</i>		<i>L. taurinensis</i>		<i>L. bozemanii</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
91052	4	1	18	4	0	0	331	74	10	2	0	0	85	19
91054	9	3	0	0	5	2	75	24	5	2	0	0	225	71
91056	41	14	0	0	0	0	158	52	5	2	1	0	96	32
91058	20	12	0	0	0	0	96	55	27	16	0	0	30	17
Erlangen	74	6	18	1	5	0	660	53	47	4	1	0	436	35

Tabelle 24: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Erlangen.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 24 dargestellt.

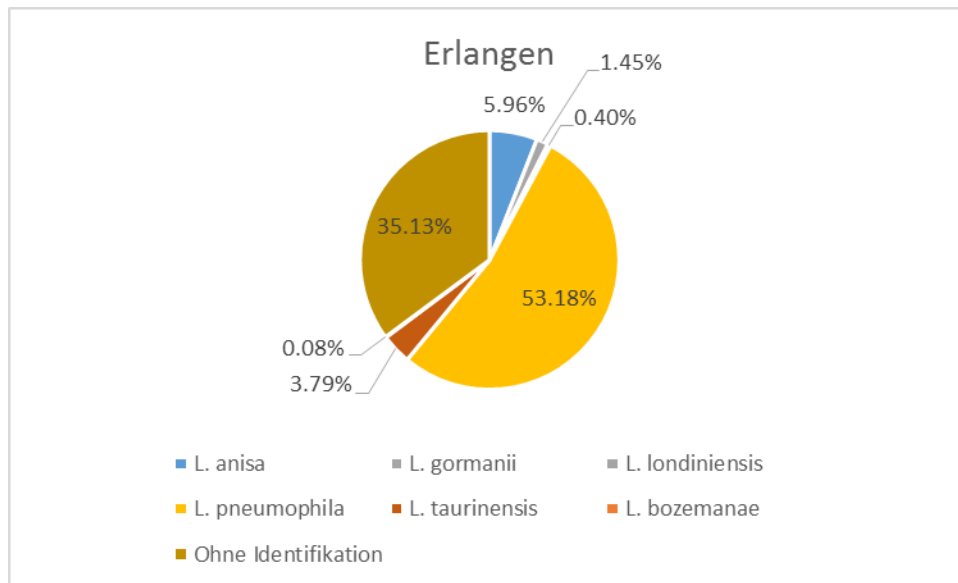


Abbildung 24: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bamberg

11.5 Freising

Die Stadt Freising hat 8.217 Gebäude mit 22.989 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 46,5 Jahren. 4 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 3 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 85 % mittels Zentralheizung und 7 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Freising wurden 2,2 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 25 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
85354	276	1.556	160	56	108	44	4	-	-
85356	292	1.312	152	64	88	52	12	-	-
Gesamtergebnis	568	2.868	312	120	196	96	16	-	-

Tabelle 25: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Freising

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 26 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. pneumophila		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
85354	41	23	96	54	42	23
85356	17	10	79	46	74	44
Freising	58	17	175	50	116	33

Tabelle 26: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Freising.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 25 dargestellt.

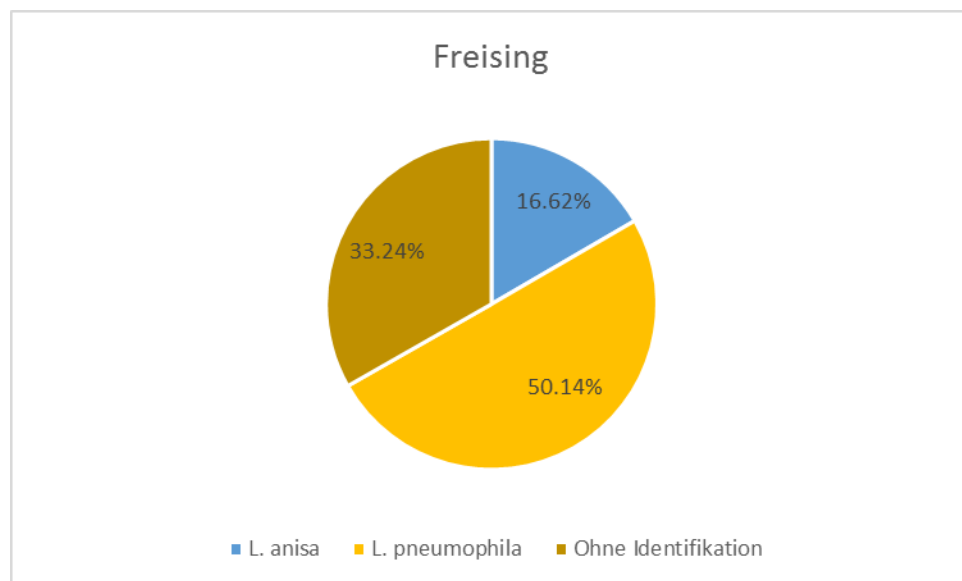


Abbildung 25: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Freising

11.6 Fürth

Die kreisfreie Stadt Fürth hat 18.858 Gebäude mit 60.272 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 49,9 Jahren. 7 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 11 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 74 % mittels Zentralheizung und 5 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Fürth wurden 2,2 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 27 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Resultate

11 Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
90762	96	1.108	612	288	332	108	128	28	16
90763	192	1.344	60	20	40	12	8	-	-
90765	124	596	72	8	64	8	-	-	-
90766	112	720	88	8	80	4	4	-	-
90768	48	208	28	8	20	4	4	-	-
Gesamtergebnis	572	3.976	860	332	536	136	144	28	16

Tabelle 27: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Fürth

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 28 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. gormanii</i>		<i>L. londiniensis</i>		<i>L. pneumophila</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
90762	0	0	0	0	267	31	562	64	43	5
90763	44	71	1	2	0	0	16	26	1	2
90765	19	27	0	0	0	0	19	27	32	46
90766	4	4	0	0	0	0	63	71	22	25
90768	21	91	0	0	0	0	2	9	0	0
Fürth	88	8	1	0	267	24	662	59	98	9

Tabelle 28: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Fürth.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 26 dargestellt.

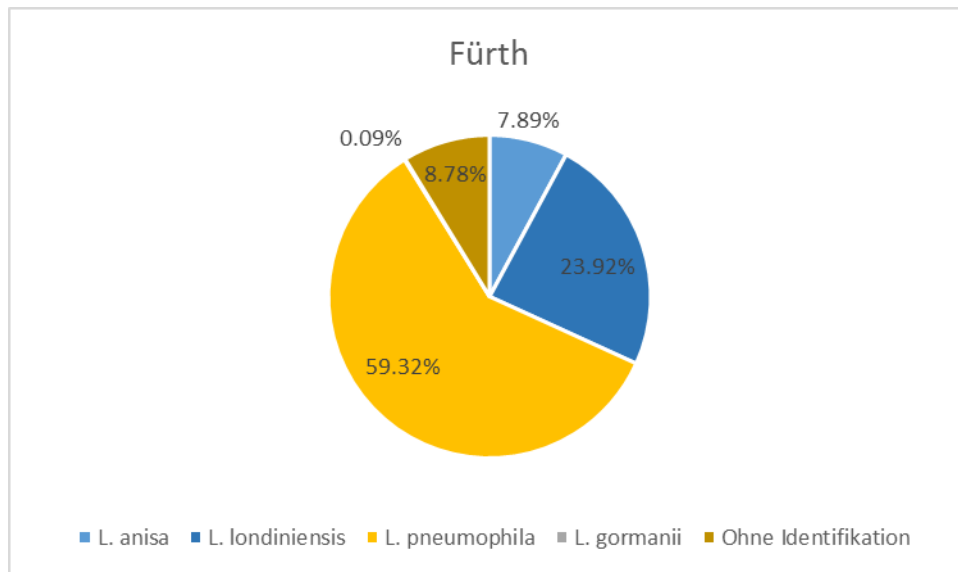


Abbildung 26: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Fürth

11.7 Ingolstadt

Die kreisfreie Stadt Ingolstadt hat 26.020 Gebäude mit 61.420 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 37,2 Jahren. 3 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 3 % per Etagenheizung, 0 % per Blockheizung, 87 % mittels Zentralheizung und 4 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Ingolstadt wurden 1,6 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 29 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
85049	44	344	44	8	36	4	-	4	-
85051	40	144	16	-	16	-	-	-	-
85053	60	308	32	8	24	8	-	-	-
85055	20	92	20	8	16	4	-	-	-
85057	4	88	48	8	44	4	-	-	-
Gesamtergebnis	168	976	160	32	136	20	-	4	-

Tabelle 29: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Ingolstadt

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 30 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. pneumophila		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
85049	13	34	1	3	24	63
85051	5	31	6	38	5	31
85053	7	33	1	5	13	62
85055	0	0	15	60	10	40
85057	0	0	50	91	5	9
Ingolstadt	25	16	73	47	57	37

Tabelle 30: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Ingolstadt.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 27 dargestellt.

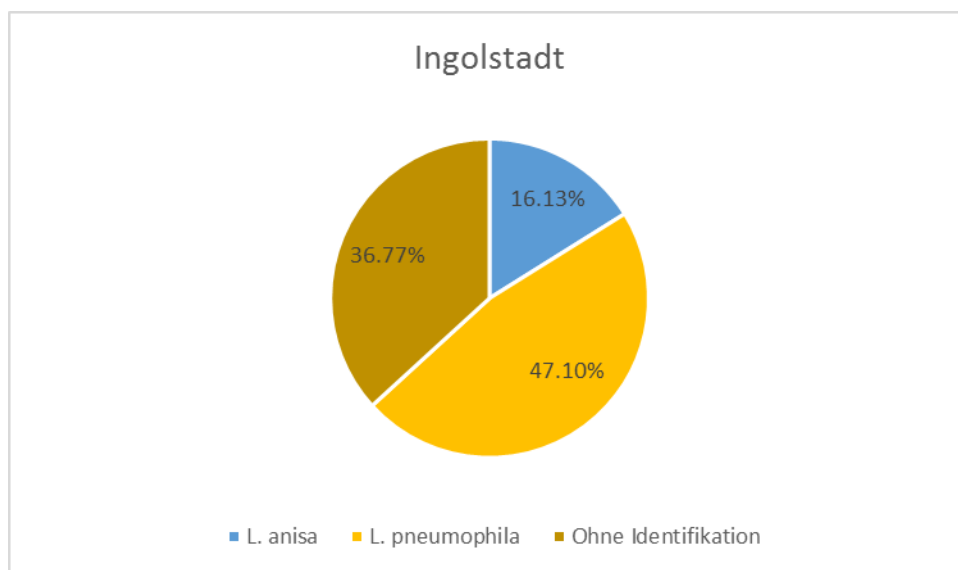


Abbildung 27: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Ingolstadt

11.8 Landshut

Die kreisfreie Stadt Landshut hat 12.821 Gebäude mit 33.512 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 49,9 Jahren. 1 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 4 % per Etagenheizung, 2 % per Blockheizung, 83 % mittels Zentralheizung und 9 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Landshut wurden 0,9 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 31 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
84028	188	1.140	136	36	100	32	4	-	-
84030	228	1.020	60	8	52	4	4	-	-
84032	204	772	68	12	56	8	4	-	-
84034	280	1.320	196	52	144	40	12	-	-
84036	144	784	124	40	84	28	12	-	-
Gesamtergebnis	1.044	5.036	584	148	436	112	36	-	-

Tabelle 31: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Landshut

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 32 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. pneumophila</i>		<i>L. rubrilucens</i>		<i>L. taurinensis</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
84028	14	12	95	79	0	0	0	0	12	10
84030	20	28	44	61	0	0	2	3	6	8
84032	0	0	18	26	0	0	5	7	46	67
84034	29	14	142	67	1	0	9	4	32	15
84036	32	25	64	50	0	0	0	0	33	26
Landshut	95	16	363	60	1	0	16	3	129	21

Tabelle 32: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Landshut.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 28 dargestellt.

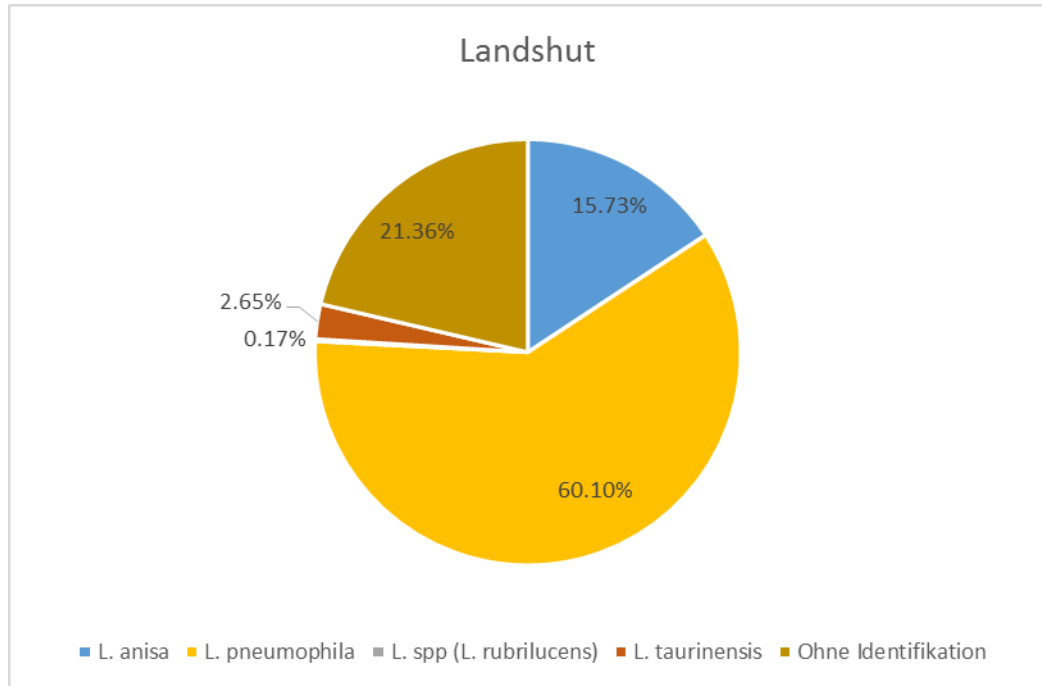


Abbildung 28: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Landshut

11.9 München

Die Landeshauptstadt München hat 140.218 Gebäude mit 777.149 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 55,6 Jahren. 13 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 6 % per Etagenheizung, 2 % per Blockheizung, 74 % mittels Zentralheizung und 6 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011).

In München wurden 1,1 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 33 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit L. spp.	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
80331	10	45	10	3	7	2	1	-	-
80333	31	156	50	8	42	5	3	-	-
80335	21	122	42	6	37	3	2	-	-
80336	16	87	45	12	36	9	-	-	-
80337	16	138	14	-	14	0	-	-	-

Resultate

11 Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten

80339	23	135	34	13	21	9	4	-	-
80469	26	163	59	7	52	6	1	-	-
80538	15	94	17	-	17	0	-	-	-
80539	19	121	39	7	33	5	1	-	-
80634	7	37	9	3	6	3	-	-	-
80636	35	398	123	18	107	11	3	1	1
80637	20	130	50	13	37	8	4	-	1
80638	14	106	49	9	40	5	4	-	-
80639	15	75	2	-	2	0	-	-	-
80686	29	200	44	7	37	5	1	-	1
80687	7	34	20	3	17	3	-	-	-
80689	33	208	73	16	57	12	4	-	-
80796	28	193	68	11	57	8	3	-	-
80797	22	181	64	12	52	8	4	-	-
80798	12	73	37	9	28	3	6	-	-
80799	28	216	94	3-	64	19	6	1	4
80801	6	51	16	3	14	2	-	-	-
80802	19	104	21	13	8	10	3	-	-
80803	7	22	8	1	7	1	-	-	-
80804	18	155	70	14	56	11	3	-	-
80805	25	227	74	25	49	18	7	-	-
80807	24	195	28	8	20	7	1	-	-
80809	39	283	106	32	76	20	8	-	2
80933	11	151	52	25	27	13	9	3	-
80935	27	128	61	9	52	8	-	-	1
80937	8	63	7	3	4	3	-	-	-
80939	33	243	53	13	40	9	3	-	1
80992	15	92	28	-	28	0	-	-	-
80993	7	52	3	-	3	0	-	-	-
80995	23	126	56	17	39	13	3	-	1
80997	30	190	38	12	27	8	2	1	-
80999	16	60	4	1	3	1	-	-	-
81241	24	132	26	7	19	5	1	-	1
81243	22	140	28	1	27	1	-	-	-
81245	21	131	47	14	33	10	4	-	-
81247	23	122	9	4	5	3	-	-	1
81249	16	70	3	-	3	0	-	-	-
81369	8	42	9	-	9	0	-	-	-
81371	9	42	2	-	2	0	-	-	-
81373	15	119	36	9	27	9	-	-	-
81375	36	629	341	116	226	90	22	-	2
81377	26	146	52	9	43	7	1	-	1
81379	30	226	46	7	39	6	1	-	-
81475	27	114	29	5	24	3	1	-	1
81476	11	62	9	-	9	0	-	-	-
81477	13	88	11	2	10	1	-	-	-
81479	27	170	43	20	23	14	6	-	-
81539	15	105	46	13	33	11	2	-	-
81541	23	193	35	7	29	4	2	-	-
81543	21	183	43	9	34	7	2	-	-
81545	47	298	80	25	55	12	9	4	-
81547	16	157	44	10	34	7	3	-	-
81549	39	447	76	12	64	7	3	1	1

Resultate

11 Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten

81667	18	122	36	6	30	6	-	-	-
81669	8	32	1	-	1	-	-	-	-
81671	9	44	11	1	11	-	-	-	-
81673	13	131	26	2	24	1	1	-	-
81675	21	107	37	12	26	4	4	1	2
81677	16	266	33	6	27	5	1	-	-
81679	17	97	37	11	26	11	-	-	-
81735	21	280	84	32	53	22	9	-	-
81737	28	341	119	33	86	22	10	-	1
81739	23	145	12	7	5	3	4	-	-
81825	28	120	21	9	12	9	-	-	-
81827	23	108	18	7	11	1	4	1	1
81829	21	168	64	12	52	9	1	-	2
81925	11	64	12	5	7	3	-	-	2
81927	28	240	96	21	75	15	6	-	-
81929	9	67	40	4	36	4	-	-	-
München	1.498	11.203	3.230	801	2.446	560	183	13	27

Tabelle 33: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in München

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 34 zusammengestellt.

Resultate

[illegible]

Tabelle 34: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in München.

Um eine bessere Vorstellung über München zu bekommen sind in Abbildung 29 die Postleitzahlgebiete dargestellt.

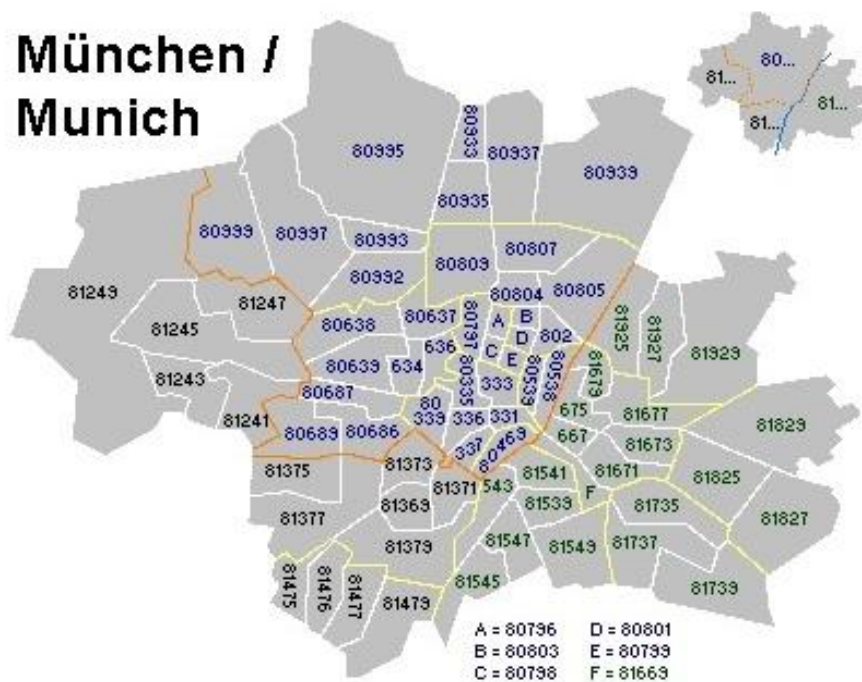


Abbildung 29: Postleitzahlgebiete innerhalb Münchens

In allen Postleitzahlbereichen Münchens waren Legionellen nachweisbar. In den Gebieten 81369, 81371 und 81669 erfolgte keine Identifizierung der Legionellen. In allen sonstigen Gebieten war *L. pneumophila* nachweisbar.

L. anisa stellt in München die zweithäufigste Legionellenart dar. In Abbildung 31 sind die Gebiete mit *L. anisa* grün eingezeichnet.

München / Munich

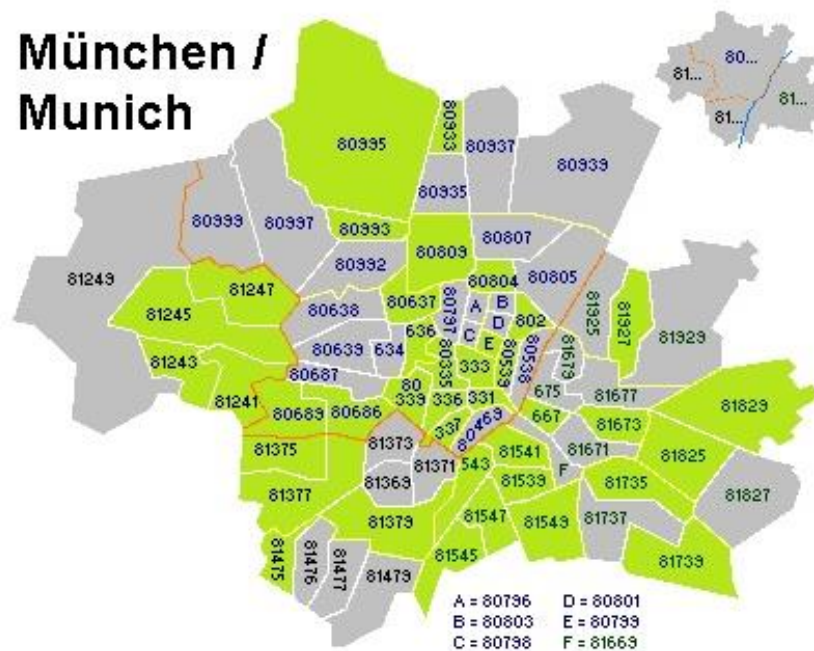


Abbildung 30: Postleitzahlgebiete in den *L. anisa* (grün) nachgewiesen wurde

L. tauriensis konnte in München ebenfalls sehr häufig nachgewiesen werden. Die Postleitzahlgebiete mit *L. tauriensis* sind in Abbildung 31 grün eingefärbt.

München / Munich

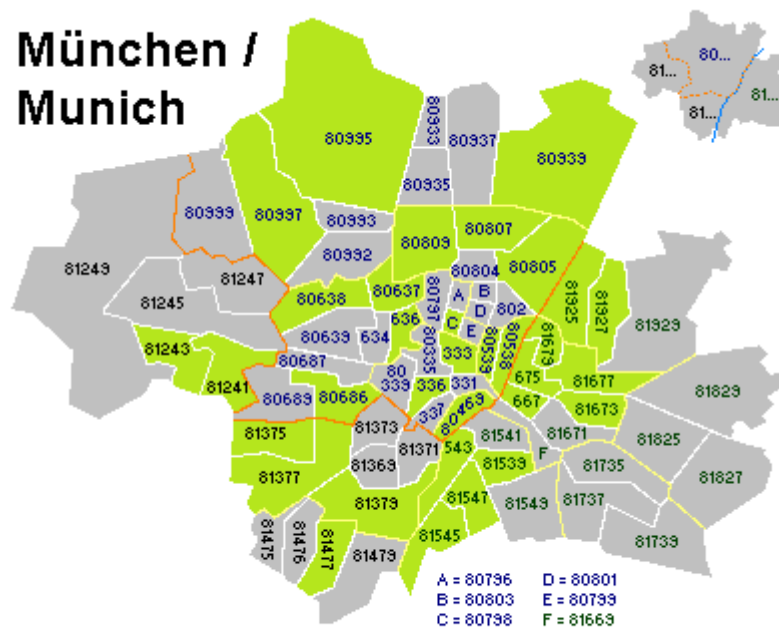


Abbildung 31: Postleitzahlgebiete in den *L. tauriensis* (grün) nachgewiesen wurde

Die selteneren Legionellen traten sehr punktuell in einzelnen Postleitzahlbereichen auf (siehe Abbildung 32).

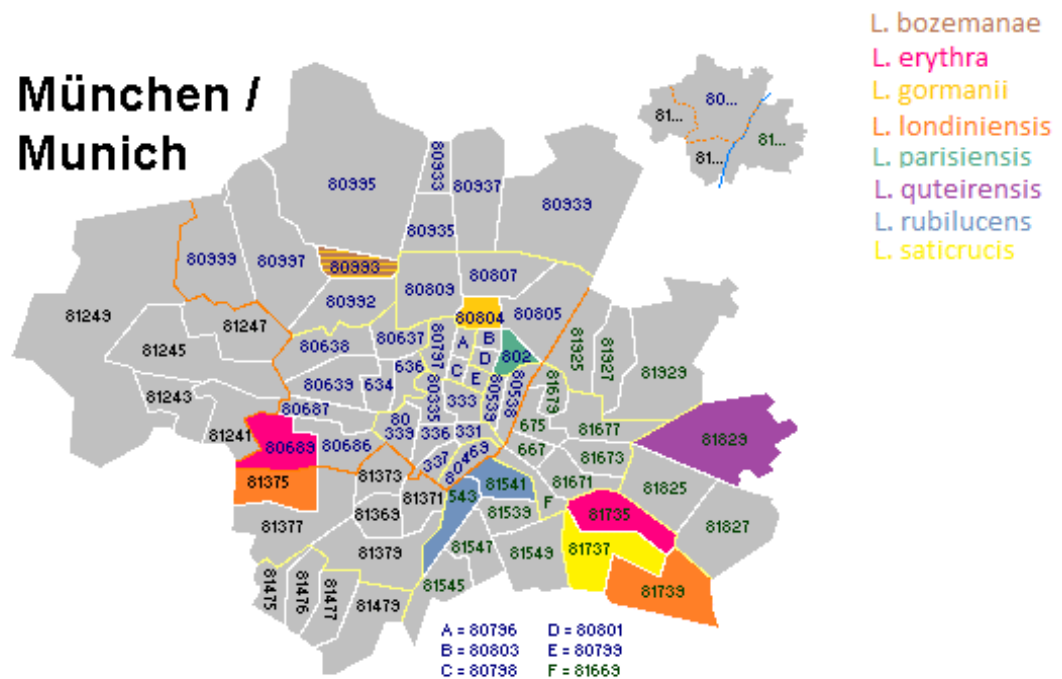


Abbildung 32: Postleitzahlgebiete in den *L. bozemanæ* (braun), *L. erythra* (pink), *L. gormanii* (dunkelgelb), *L. londiniensis* (orange), *L. parisiensis* (grün), *L. quateirensis* (lila), *L. rubrilucens* (blau) und *L. santicrucis* (zitronengelb) nachgewiesen wurden

11.10 Neu-Ulm

Die Stadt Neu-Ulm hat 10.341 Gebäude mit 26.104 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 42,7 Jahren. 11 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 4 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 76 % mittels Zentralheizung und 8 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Neu-Ulm wurden 1,2 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 35 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
89231	184	2184	448	168	280	100	52	8	8
89233	60	296	40	12	28	4	8	-	-
Gesamtergebnis	244	2480	488	180	308	104	60	8	8

Tabelle 35: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Neu-Ulm

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 36 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. gormanii		L. pneumophila		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
89231	99	19	0	0	207	39	224	42
89233	15	30	1	2	0	0	34	68
Neu-Ulm	114	20	1	0	207	36	258	44

Tabelle 36: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Neu-Ulm.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 33 dargestellt.

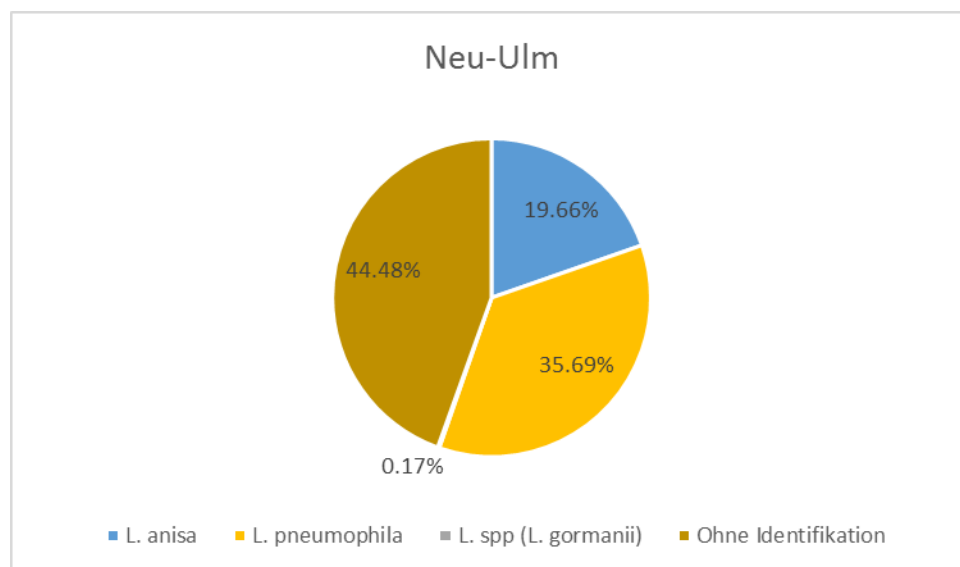


Abbildung 33 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Neu-Ulm

11.11 Nürnberg

Die kreisfreie Stadt Nürnberg hat 71.408 Gebäude mit 266.267 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 51,6 Jahren. 13 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 11 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 67 % mittels Zentralheizung und 8 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Nürnberg wurden 4,3 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 37 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
90402	92	400	76	44	32	32	4	4	4
90403	64	384	60	36	24	20	8	8	-
90408	60	320	16	8	8	8	-	-	-
90409	60	352	20	8	12	4	4	-	-
90411	16	132	24	8	16	8	-	-	-
90419	92	572	152	72	80	36	28		8
90425	52	456	104	28	76	16	8	4	
90427	32	392	80	20	60	20			
90429	92	948	232	40	196	16	20		
90431	80	608	112	36	76	24	12		
90439	40	268	80	32	48	32			
90441	236	1.120	208	44	164	32	12		
90443	52	248	36	12	24	8	4		
90449	100	732	192	48	148	40	4	4	
90451	96	540	120	32	88	32			
90453	40	200	8	4	4	4			
90455	68	240	24	4	20			4	
90459	64	372	28	8	24	4			
90461	72	416	76	40	36	40			
90469	12	60							
90471	92	860	432	148	284	108	40		
90473	44	552	56	24	32	16	8		
90475	180	820	44	4	40	4			
90478	40	240	60	40	20	12	16	4	8
90480	88	520	48	4	44	4			
90482	52	340	32	12	20	8	4		
90489	124	816	156	60	96	36	16		8
90491	72	488	84	40	44	24	12	4	
Gesamtergebnis	2.112	13.396	2.560	856	1.716	588	200	32	28

Tabelle 37: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Nürnberg

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 38 zusammengestellt.

Resultate

11 Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten

Post-leit-zahl	L. anisa		L. bozemanii		L. gormanii		L. londiniensis		L. pneumophila		L. rubrilucens		L. taurinensis		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
90402	19	21	0	0	0	0	0	0	64	72	0	0	5	6	1	1
90403	16	25	0	0	0	0	0	0	15	24	0	0	0	0	32	51
90408	0	0	0	0	0	0	0	0	12	71	5	29	0	0	0	0
90409	8	31	0	0	0	0	0	0	5	19	0	0	0	0	13	50
90411	5	19	0	0	0	0	0	0	21	81	0	0	0	0	0	0
90419	23	12	0	0	0	0	0	0	31	16	0	0	32	16	114	57
90425	12	11	0	0	1	1	0	0	64	59	0	0	0	0	31	29
90427	3	4	0	0	0	0	0	0	68	88	0	0	0	0	6	8
90429	23	9	0	0	0	0	0	0	109	44	0	0	0	0	114	46
90431	6	5	0	0	0	0	0	0	97	87	0	0	0	0	8	7
90439	3	3	0	0	0	0	0	0	57	66	0	0	0	0	26	30
90441	40	18	0	0	1	0	0	0	64	29	0	0	0	0	118	53
90443	3	9	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	29	88
90449	0	0	0	0	0	0	0	0	14	6	1	0	0	0	203	93
90451	3	2	0	0	0	0	0	0	11	8	0	0	0	0	130	90
90453	3	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	50
90455	0	0	0	0	0	0	0	0	5	17	0	0	0	0	24	83
90459	0	0	0	0	0	0	0	0	17	59	0	0	12	41	0	0
90461	8	10	0	0	0	0	0	0	7	8	0	0	6	7	62	75
90469	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90471	7	1	0	0	1	0	1	0	323	64	0	0	0	0	173	34
90473	0	0	0	0	0	0	0	0	26	41	0	0	0	0	37	59
90475	5	17	0	0	0	0	0	0	17	57	0	0	0	0	8	27
90478	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83	100
90480	18	33	5	9	0	0	0	0	25	45	0	0	0	0	7	13
90482	26	58	0	0	4	9	0	0	15	33	0	0	0	0	0	0
90489	7	4	0	0	0	0	0	0	74	45	0	0	0	0	85	51
90491	31	31	0	0	0	0	0	0	63	64	0	0	0	0	5	5
Nürnberg	269	9	5	0	7	0	1	0	1205	42	6	0	55	2	1312	46

Tabelle 38: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Nürnberg.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 34 dargestellt.

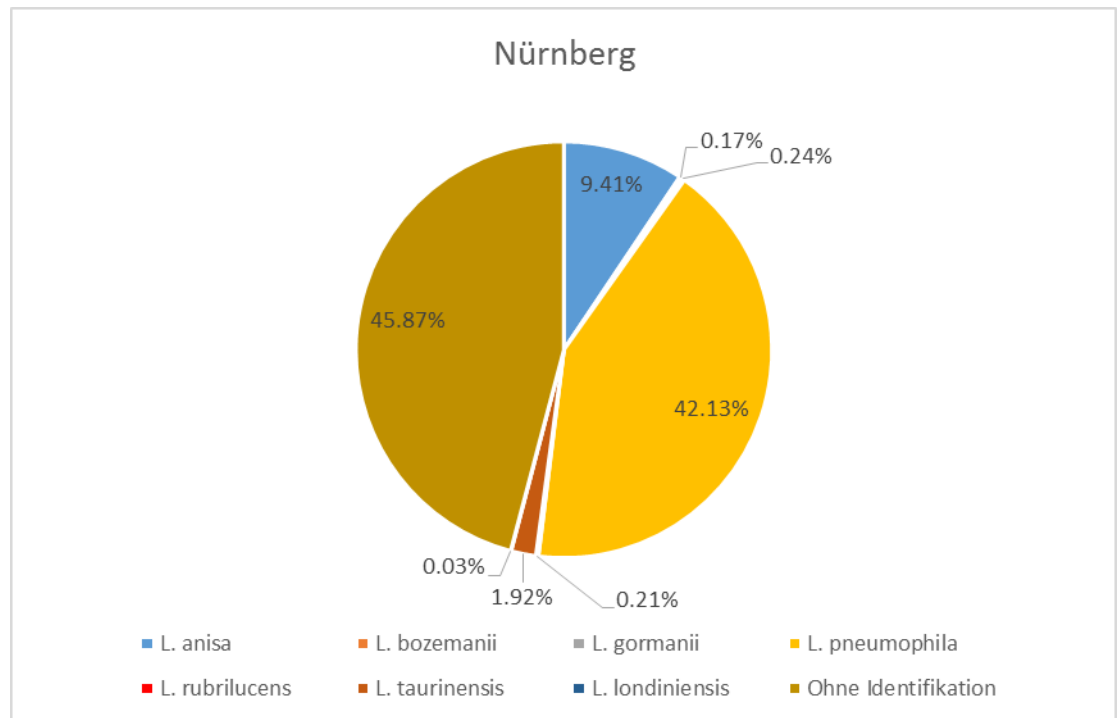


Abbildung 34: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Nürnberg

11.12 Passau

Die kreisfreie Stadt Passau hat 10.582 Gebäude mit 29.520 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 55,5 Jahren. 5 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 7 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 82 % mittels Zentralheizung und 7 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Passau wurden 0,9 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 39 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit L. spp.	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
94032	56	252	40	20	20	8	8	4	
94034	64	280	24	8	16	8			
94036	68	348	20	4	16	4			
Gesamtergebnis	188	880	84	32	52	20	8	4	

Tabelle 39: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Passau

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 40 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. londiniensis		L. pneumophila		L. taurinensis		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
94032	12	19	1	2	49	79	0	0	0	0
94034	19	63	0	0	6	20	0	0	5	17
94036	8	40	0	0	7	35	5	25	0	0
Passau	39	35	1	1	62	55	5	4	5	4

Tabelle 40: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Passau.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 35 dargestellt.

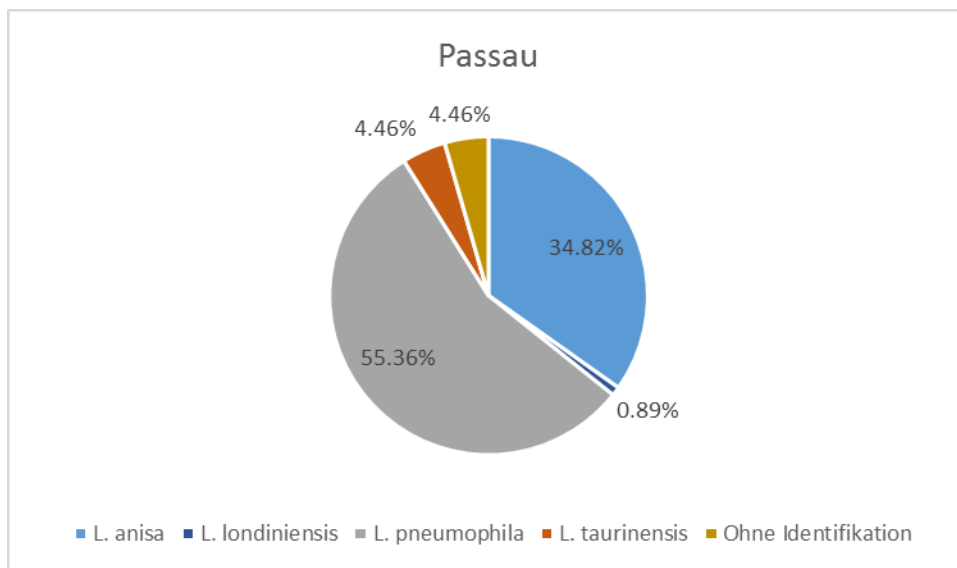


Abbildung 35: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Passau

11.13 Regensburg

Die kreisfreie Stadt Regensburg hat 21.216 Gebäude mit 83.314 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 52,2 Jahren. 5 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 6 % per Etagenheizung, 2 % per Blockheizung, 78 % mittels Zentralheizung und 9 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Regensburg wurden 0,4 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 41 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmehewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
93047	20	104	40	32	8	20	12		
93049	12	48	4		4				
93051	20	212							
93053	20	296	28	8	20		8		
93055	16	44	8		8				
93057	16	84	4		4				
93059	8	56	20	16	4	8	8		
Gesamtergebnis	112	844	104	56	48	28	28		

Tabelle 41: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Regensburg

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 42 zusammengestellt.

Postleitzahl	L. anisa		L. gormanii		L. pneumophila		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
93047	0	0	0	0	43	70	18	30
93049	0	0	0	0	0	0	5	100
93051	0	0	0	0	0	0	0	0
93053	3	9	0	0	0	0	32	91
93055	0	0	0	0	10	100	0	0
93057	0	0	0	0	0	0	3	100
93059	12	38	1	1	11	34	8	25
Regensburg	15	10	1	1	64	44	66	45

Tabelle 42: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Regensburg.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 36 dargestellt.

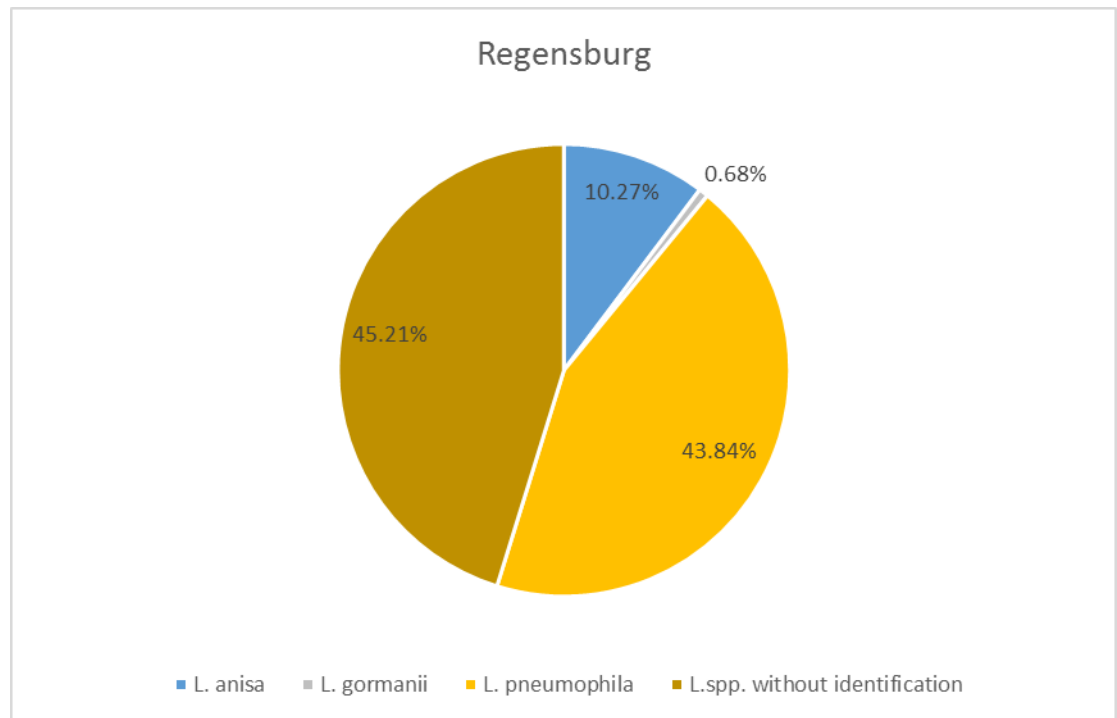


Abbildung 36: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Regensburg

11.14 Rosenheim

Die kreisfreie Stadt Rosenheim hat 10.430 Gebäude mit 31.215 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 44,9 Jahren. 9 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 3 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 77 % mittels Zentralheizung und 7 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Rosenheim wurden 4,6 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 43 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit L. spp.	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
83022	352	2364	444	132	312	80	40	8	4
83024	224	1136	176	32	144	16	16		
83026	260	1660	280	76	204	60	8		8
Gesamtergebnis	836	5160	900	240	660	156	64	8	12

Tabelle 43: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Rosenheim

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 44 zusammengestellt.

Post-leit-zahl	L. anisa		L. dumoffii		L. gormanii		L. pneumophila		L. rubrilucens		L. taurinensis		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
83022	9	2	1	0	0	0	427	77	0	0	2	0	114	21
83024	6	3	0	0	2	1	109	56	0	0	5	3	71	37
83026	28	9	0	0	0	0	255	81	1	0	0	0	32	10
Rosenheim	43	4	1	0	2	0	791	74	1	0	7	1	217	20

Tabelle 44: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Rosenheim.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 37 dargestellt.

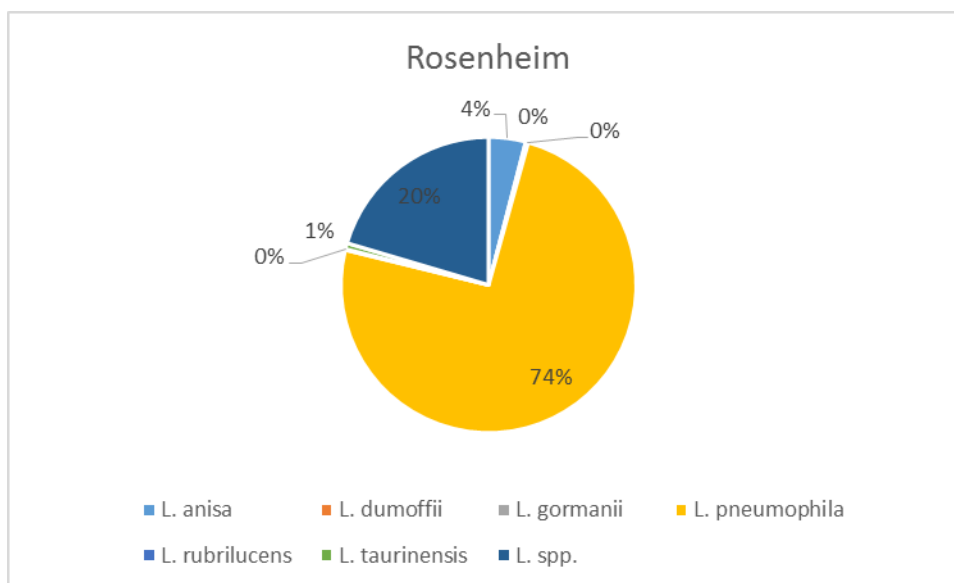


Abbildung 37 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Rosenheim

11.15 Schweinfurt

Die kreisfreie Stadt Schweinfurt hat 9.102 Gebäude mit 28.090 Wohnungen. Das mittlere Alter der Gebäude liegt bei 51,4 Jahren. 10 % der Gebäude werden mit Fernwärme, 10 % per Etagenheizung, 1 % per Blockheizung, 64 % mittels Zentralheizung und 14 % per Einzel-/Mehrraumöfen (auch Nachtspeicherheizung) beheizt und mit Warmwasser versorgt (Anon. 2011). In Schweinfurt wurden 1,4 % der Gebäude untersucht und die Daten ausgewertet. In Tabelle 45 wurden die Anzahl der Hausinstallationen, Proben und Kontamination je Postleitzahl zusammengefasst.

Postleitzahl	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmewert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
97421	64	292	88	28	60	20		8	
97422	64	372	128	36	100	12	12	4	
97424	48	196	100	28	72	16	8	4	
Gesamtergebnis	176	860	316	92	232	48	20	16	

Tabelle 45: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Schweinfurt

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Postleitzahlen wurde in Tabelle 46 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. pneumophila</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
97421	17	15	71	65	22	20
97422	11	8	116	81	16	11
97424	5	4	107	89	8	7
Schweinfurt	33	9	294	79	46	12

Tabelle 46: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Postleitzahlbereich in Schweinfurt.

Für die gesamte Stadt wurden die Daten graphisch in Abbildung 38 dargestellt.

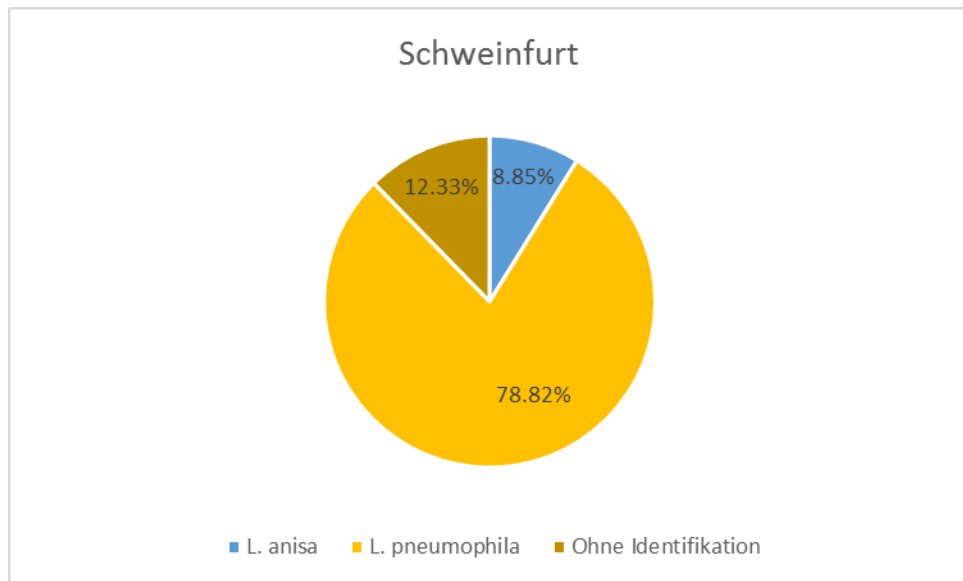


Abbildung 38: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Schweinfurt

11.16 Verschiedene Städte

Die Gebäudeanzahl, das mittlere Alter und die Heizungsarten sind für die verschiedenen Städte in Tabelle 47 dargestellt. Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Städte wurde in Tabelle 48 zusammengestellt.

Orte	Anzahl der Gebäude	Anzahl der Wohnungen	Mittlere Alter der Gebäude [Jahren]	Anteil der Wohnungen mit Fernwärme [%]	Anteil der Wohnungen mit Etagenheizung [%]	Anteil der Wohnungen mit Blockheizung [%]	Anteil der Wohnungen mit Zentralheizung [%]	Anteil der Wohnungen mit Einzelraumheizung [%]	Anteil der Untersuchten Gebäude [%]
Dachau	7.945	21.472	39,3	3	3	1	87	7	4,2
Erding	6.558	16.299	35,6	12	1	1	80	5	2,9
Fürstenfeldbruck	6.208	16.720	40,2	6	2	1	88	3	2,0
Garmisch-Partenkirchen	5.297	15.581	58,6	2	2	0	90	5	2,3
Gauting	5.068	9.271	40	2	2	1	90	4	0,7
Germering	6.738	18.880	37	3	1	0	92	3	2,2
Landsberg a. Lech	6.063	13.150	51,5	1	2	1	88	8	7,5
Starnberg	5.354	11.427	43	2	4	1	89	5	3,7
Straubing	10.164	23.462	47,8	4	5	0	79	11	1,5
Weilheim	5.139	10.540	44,7	2	3	0	86	7	1,7

Tabelle 47: Übersicht der Gebäude und Heizungsarten in den verschiedenen Städten

Orte	Anzahl von untersuchten Hausinstallationen	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl Proben mit <i>L. spp.</i>	Anzahl von > technischer Maßnahmwert	Anzahl Proben mit geringer Kontamination	Anzahl von Proben mit mittlerer Kontamination	Anzahl von Proben mit hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit extrem hoher Kontamination	Anzahl von Proben mit Ergebnis >200
Dachau	476	3008	656	160	500	128	28		
Erding	556	4164	712	264	452	176	72	4	8
Fürstentfeldbruck	456	2892	852	268	588	168	76	4	16
Garmisch-Partenkirchen	444	1680	188	52	136	44	8		
Gauting	124	836	112	32	80	20	8		4
Germering	344	2340	500	140	364	84	40	12	
Landsberg a. Lech	220	1612	304	84	220	28	52	4	
Starnberg	516	3176	676	184	500	128	48		
Straubing	76	996	632	264	376	172	32	16	36
Weilheim	340	2312	204	40	164	24	16		

Tabelle 48: Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in verschiedenen Städten

Die Verteilung der gefundenen *L. spp.* auf die verschiedenen Orte wurde in Tabelle 49 zusammengestellt.

Postleitzahl	<i>L. anisa</i>		<i>L. bozemaanae</i>		<i>L. dumoffii</i>		<i>L. erythra</i>		<i>L. gormanii</i>		<i>L. pneumophila</i>		<i>L. quateirensis</i>		<i>L. rubrilucens</i>		<i>L. taurinensis</i>		ohne Identifikation	
	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%	Untersuchte Kolonien	%
Dachau	33	5	0	0	0	0	0	0	0	0	511	70	0	0	0	0	0	0	186	25
Erding	129	15	0	0	22	3	0	0	2	0	253	30	1	0	1	0	180	22	247	30
Fürstentfeldbruck	56	5	1	0	0	0	0	0	0	0	781	77	0	0	0	0	33	3	149	15
Garmisch-Partenkirchen	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	147	67	0	0	0	0	5	2	61	28
Gauting	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	10	0	0	0	0	0	0	120	90
Germering	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	312	62	0	0	0	0	125	25	60	12
Landsberg a. Lech	30	8	0	0	0	0	0	0	2	1	232	63	0	0	1	0	39	11	62	17
Starnberg	41	6	0	0	0	0	1	0	0	0	495	72	0	0	0	0	1	0	145	21
Straubing	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	483	62	0	0	0	0	0	0	284	37
Weilheim	69	34	0	0	0	0	0	0	0	0	103	50	0	0	0	0	0	0	32	16

Tabelle 49: Verteilung der verschiedenen *L. spp.* je Ortschaft.

Für die einzelnen Städte wurden die Daten graphisch in Abbildung 39 bis Abbildung 48 dargestellt.

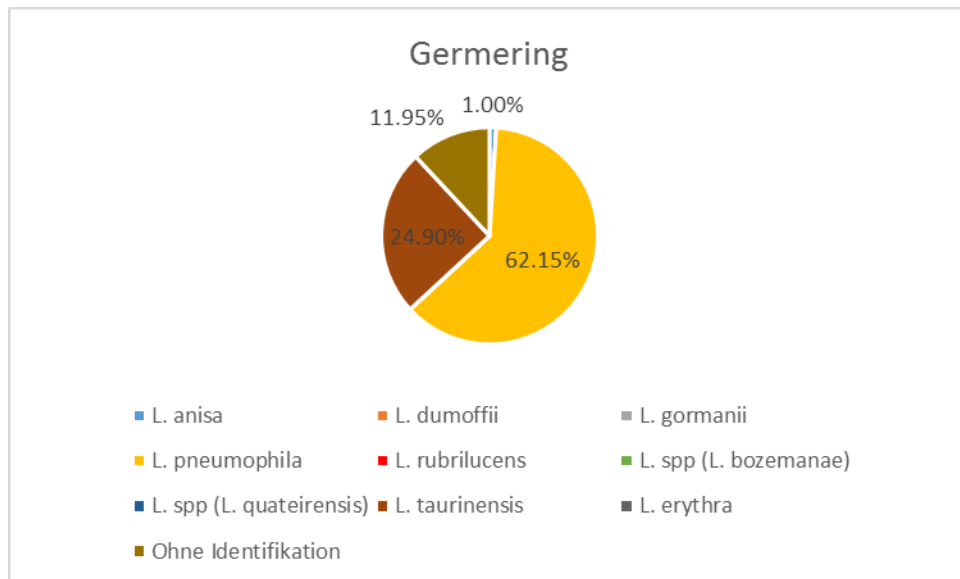


Abbildung 39: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Germering

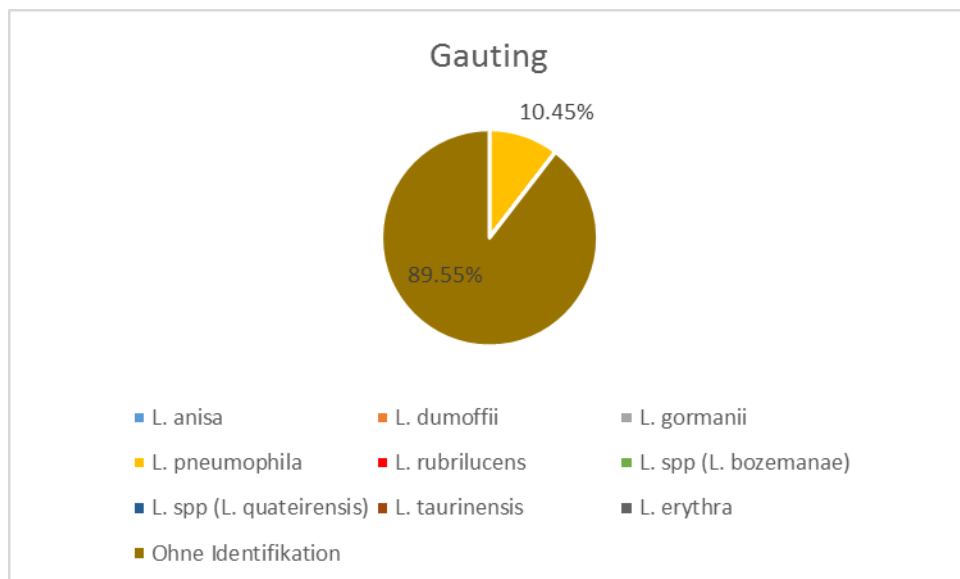


Abbildung 40: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Gauting

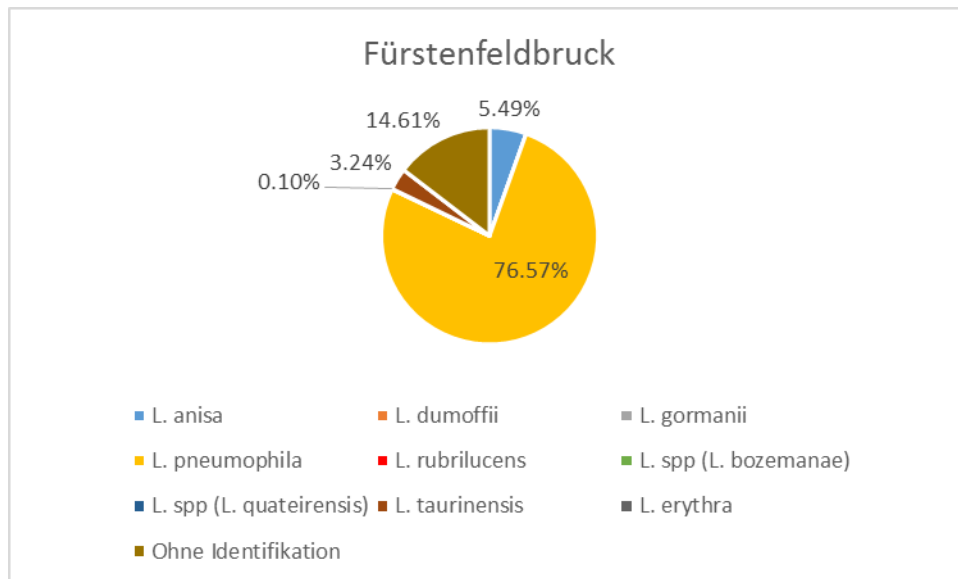


Abbildung 41: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Fürstenfeldbruck

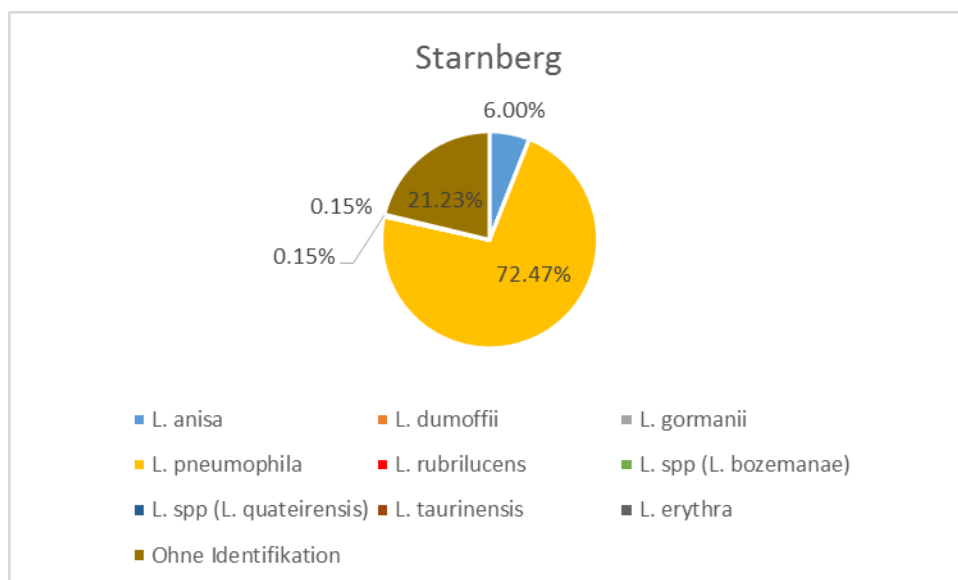


Abbildung 42: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Starnberg

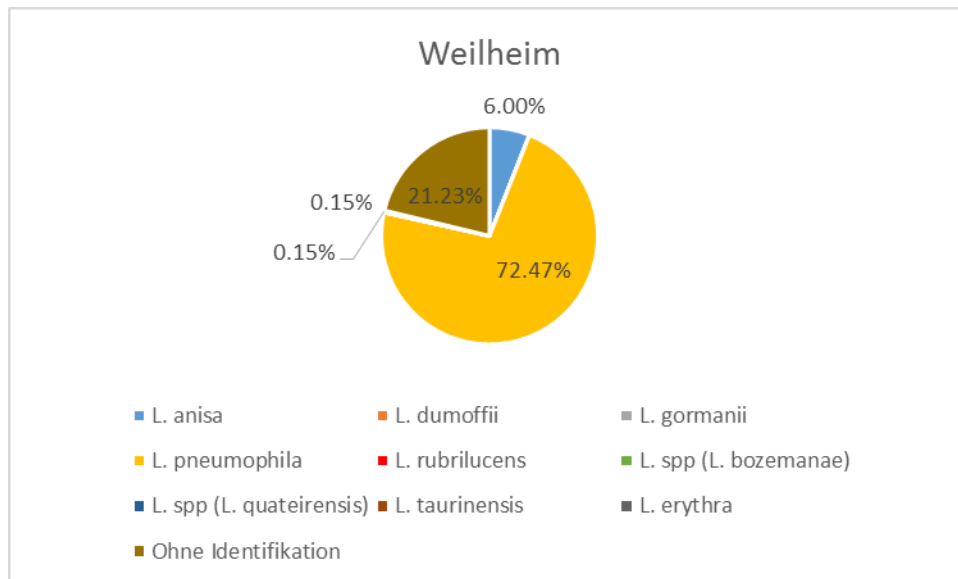


Abbildung 43: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Weilheim

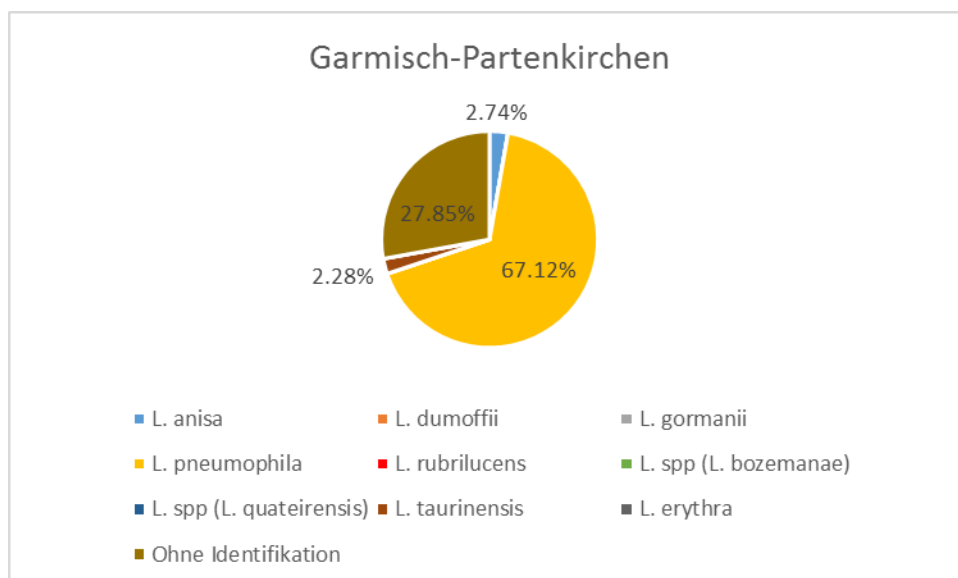


Abbildung 44: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Garmisch-Partenkirchen

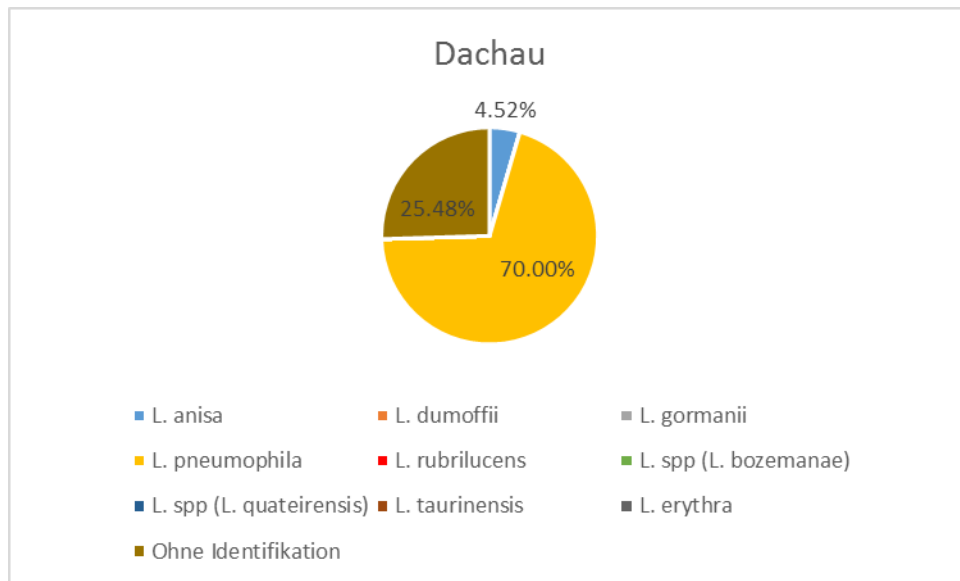


Abbildung 45: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Dachau

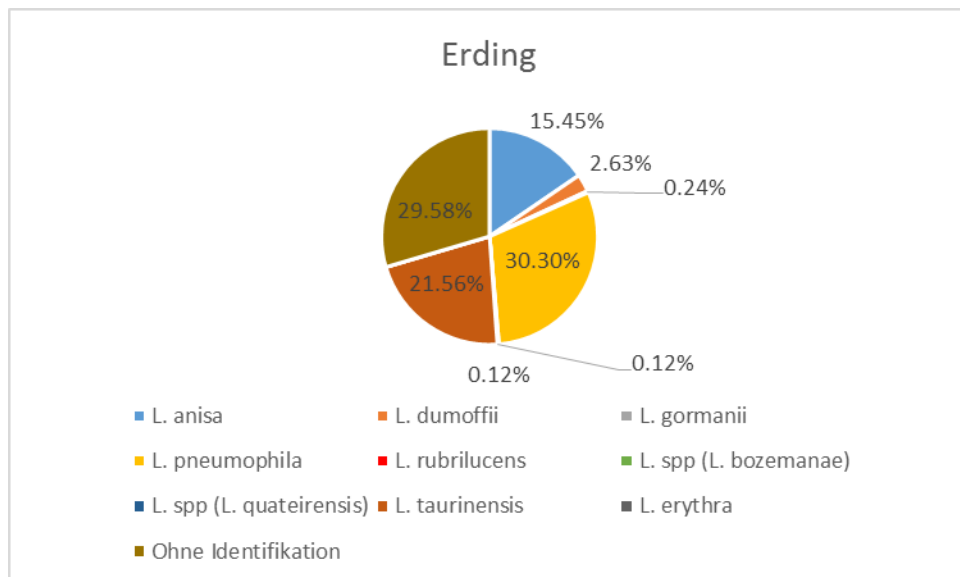


Abbildung 46: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Erding

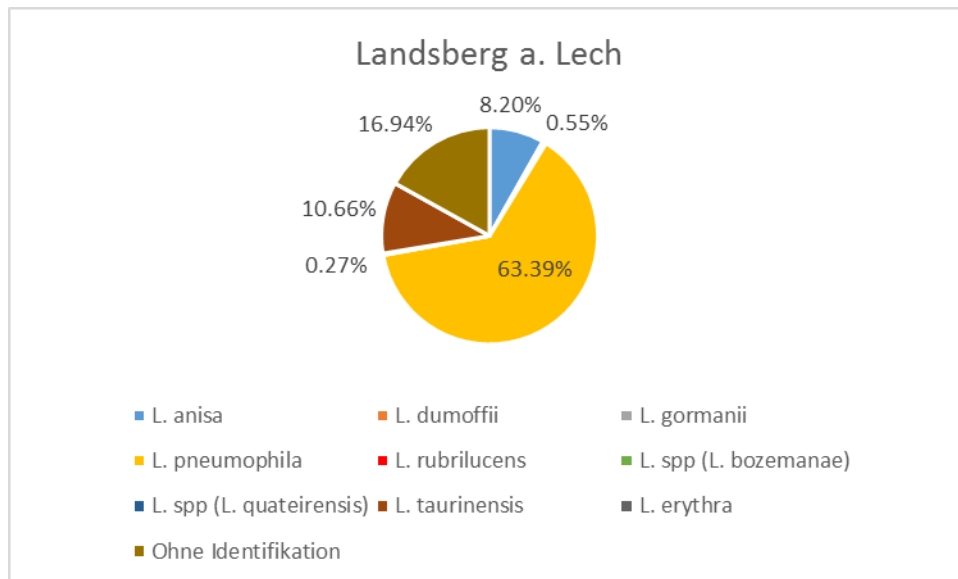


Abbildung 47: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Landsberg am Lech

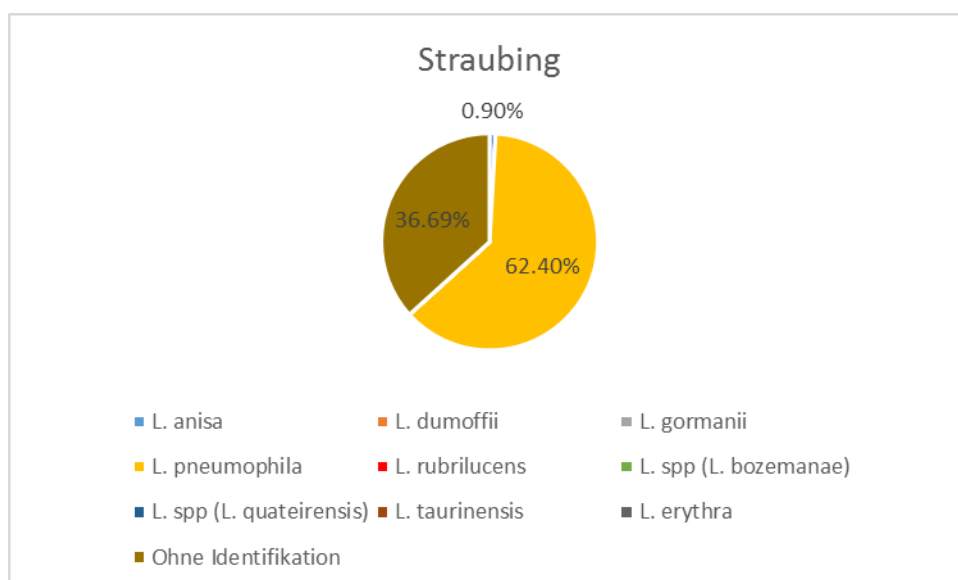


Abbildung 48: Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Straubing

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

Die einzelnen Städte wurden der Postleitzahlregion zugeordnet, in der diese liegen. Die gezählten und identifizierten Kolonien in der Region wurden als absolut angenommen. Der prozentuale Anteil der gefundenen *L. spp.* in der jeweiligen Stadt wurde im Verhältnis zum gefundenen Anteil der Legionellen in der Region berechnet und in den Tabellen dargestellt. Diese Art der Betrachtung erlaubt es die selteneren Legionellen-Funde gut sichtbar zu machen.

Waren in einer Postleitzahlregion mehrere Städte, so wurden die Städte in den Grafiken direkt miteinander verglichen.

München wurde nicht auf diese Weise betrachtet, da München aus 2 kompletten Postleitzahlregionen besteht.

Um Unterschiede besser erkennen zu können liegt das Hauptaugenmerk auf den selteneren Legionellen (*Non-L. pneumophila* und *NON-L. anisa*).

12.1 Postleitzahlregion 82

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. jamestownensis</i>
Weilheim	2%	9%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Fürstenfeld-bruck	14%	7%	11%	0%	0%	0%	0%	25%	0%	0%
Garmisch-Partenkirchen	3%	1%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Gauting	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Germering	6%	1%	25%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Starnberg	9%	5%	0%	0%	0%	0%	9%	0%	0%	0%

Tabelle 50: Anteil der gefundenen *L. spp.* je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 82

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

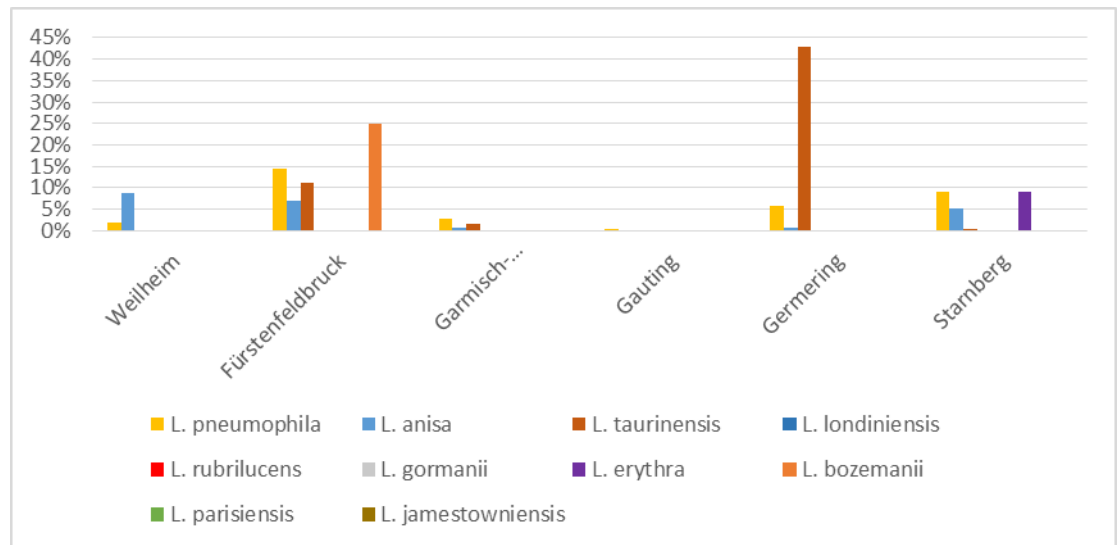


Abbildung 49: Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 82 in Bezug auf die jeweiligen Orte.

Weilheim hat mit 9% den höchsten Anteil an *L. anisa* Kolonien in der Region.

In Germering konzentrieren sich die Funde von *L. taurinensis* mit 43% der Kolonien, die in dieser Region gefunden wurden. In Fürstenfeldbruck wurden 25% der *L. bozemanii* Kolonien und 11 % der *L. taurinensis* Kolonien der Region gefunden.

Starnberg zeigt von den hier untersuchten Städten den höchsten Anteil der *L. erythra* Kolonien mit 9% auf.

12.2 Postleitzahlregion 83

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londoniensis</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. parisiensis</i>
83	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Rosenheim	13%	8%	5%	0%	100%	33%	15%	0%	0%

Tabelle 51: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Rosenheim in Bezug auf die Postleitzahlregion 83

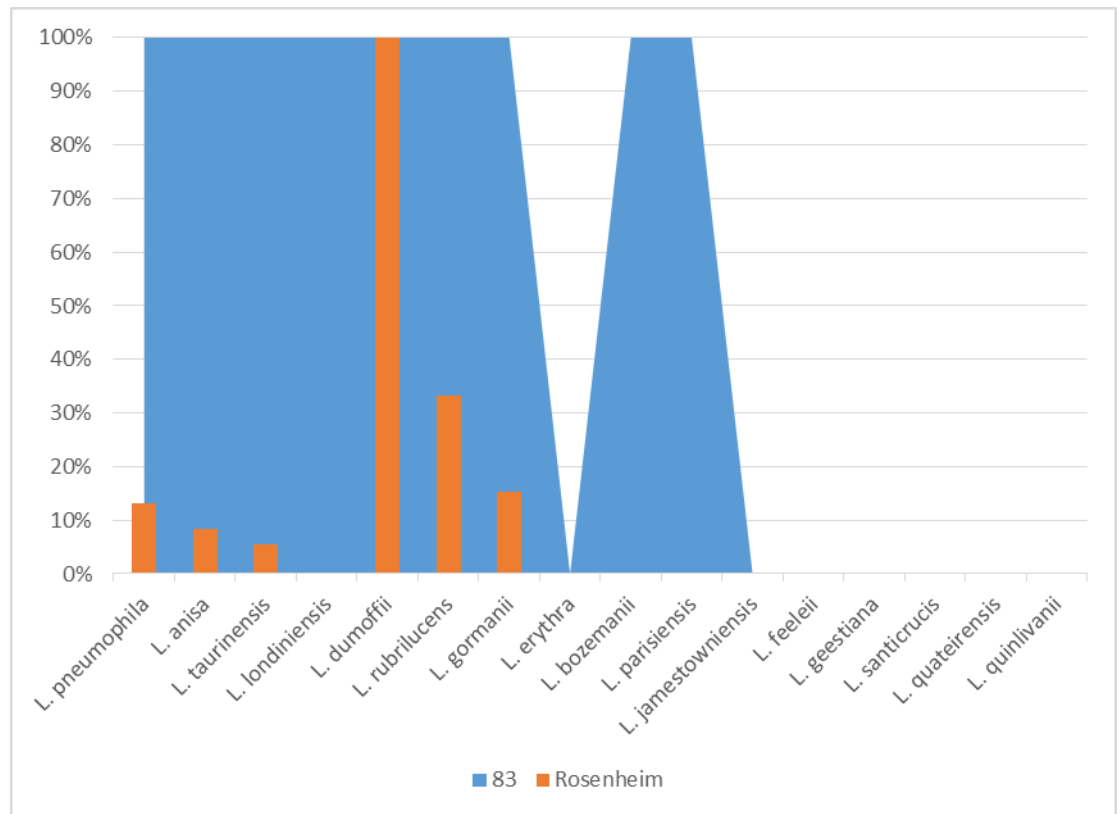


Abbildung 50: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 83 gegen die Legionellenbefunde aus Rosenheim

In Rosenheim wurden alle *L. dumoffii* Kolonien der Region gefunden. Dafür wurden keine Kolonien von *L. bozemanii* und *L. parisiensis* in Rosenheim gefunden. Die Funde von *L. taurinensis* waren mit 5 % unterdurchschnittlich.

12.3 Postleitzahlregion 84

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. feeleii</i>
84	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Landshut	23%	38%	48%	100%	0%	0%	0%

Tabelle 52: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Landshut in Bezug auf die Postleitzahlregion 84

Resultate

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

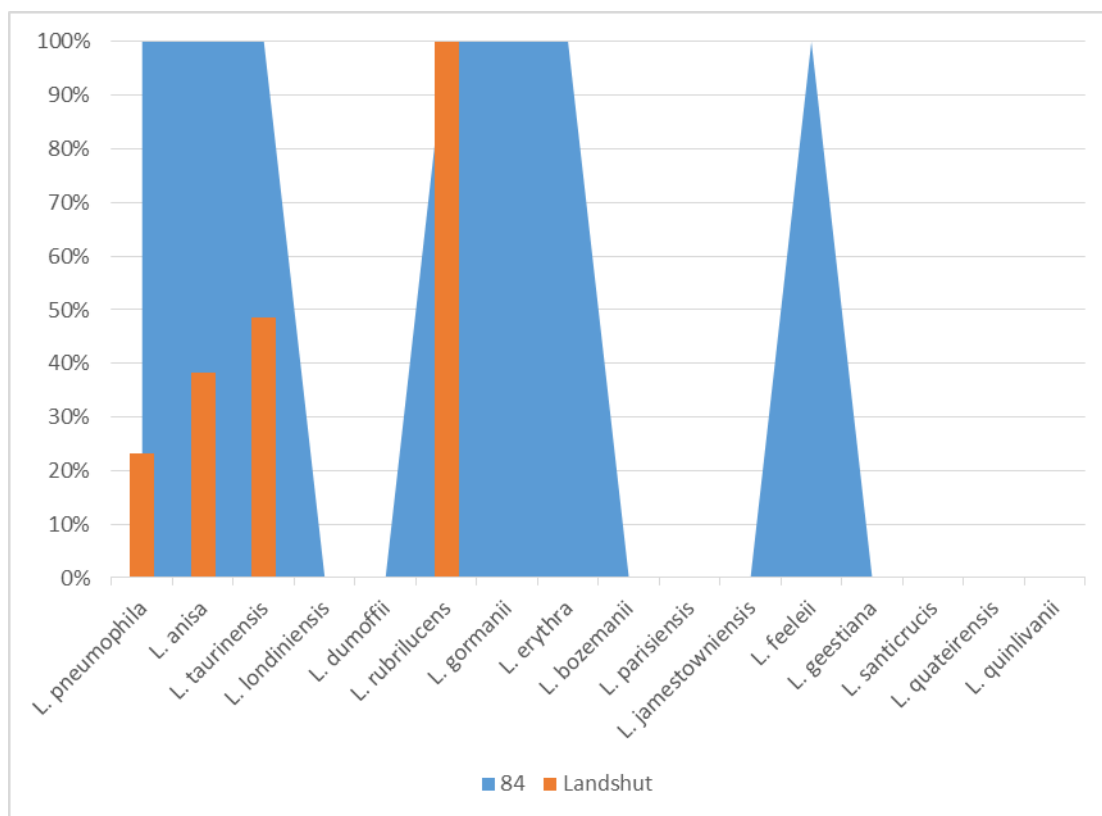


Abbildung 51: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 84 gegen die Legionellenbefunde aus Landshut

Alle Funde von *L. rubrilucens* aus dieser Region sind aus Landshut und annähernd die Hälfte der *L. taurinensis* Funde. Dafür wurde keine Kolonie als *L. gormanii*, *L. erythra* oder *L. feeleeii* in Landshut identifiziert.

12.4 Postleitzahlregion 85

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. santacrucis</i>	<i>L. quateirensis</i>
Erding	6%	20%	52%	0%	100%	13%	20%	0%	0%	0%	0%	100%
Dachau	12%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Ingolstadt	2%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Freising	4%	9%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Tabelle 53: Anteil der gefundenen *L. spp.* je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 85

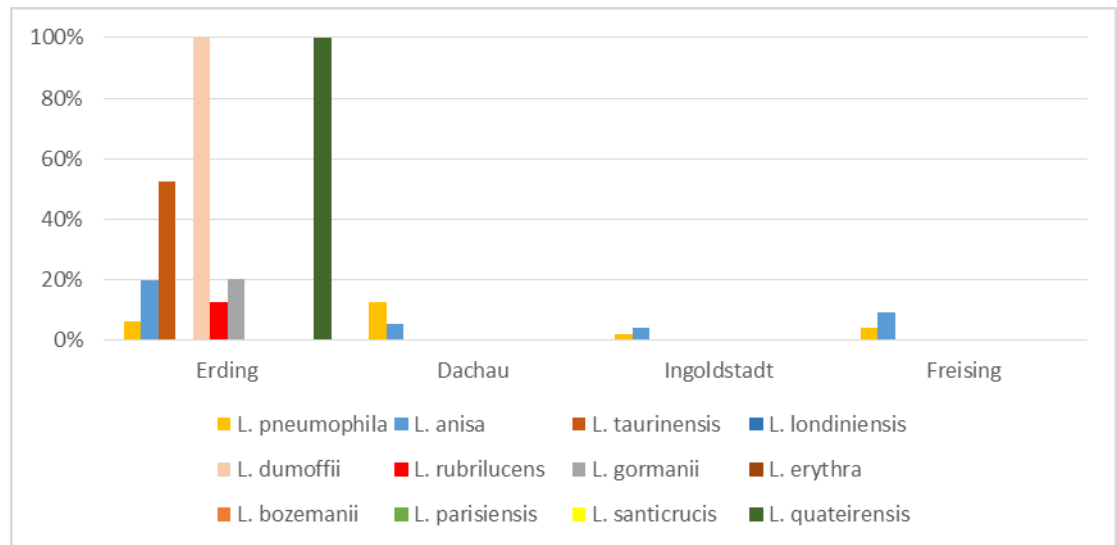


Abbildung 52: Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 85 in Bezug auf die jeweiligen Orte.

Erding hebt sich von den Vergleichsorten in der Region durch die Vielfalt an verschiedene *L. sp.* deutlich ab. Alle Kolonien von *L. dumoffii* und *L. quateirensis* in dieser Region stammen aus Erding. 52% der *L. taurinensis* und 13% *L. rubrilucens* bzw. 20% *L. gormanii* – Kolonien sind ebenfalls aus Erding, während in den Städten Freising, Ingolstadt und Dachau nur *L. pneumophila* und *L. anisa* zu finden sind.

12.5 Postleitzahlregion 86

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. geestiana</i>
Landsberg am Lech	17%	12%	51%	0%	100%	33%	0%
Augsburg	41%	10%	0%	0%	0%	0%	0%

Tabelle 54: Anteil der gefundenen *L. spp.* je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 86

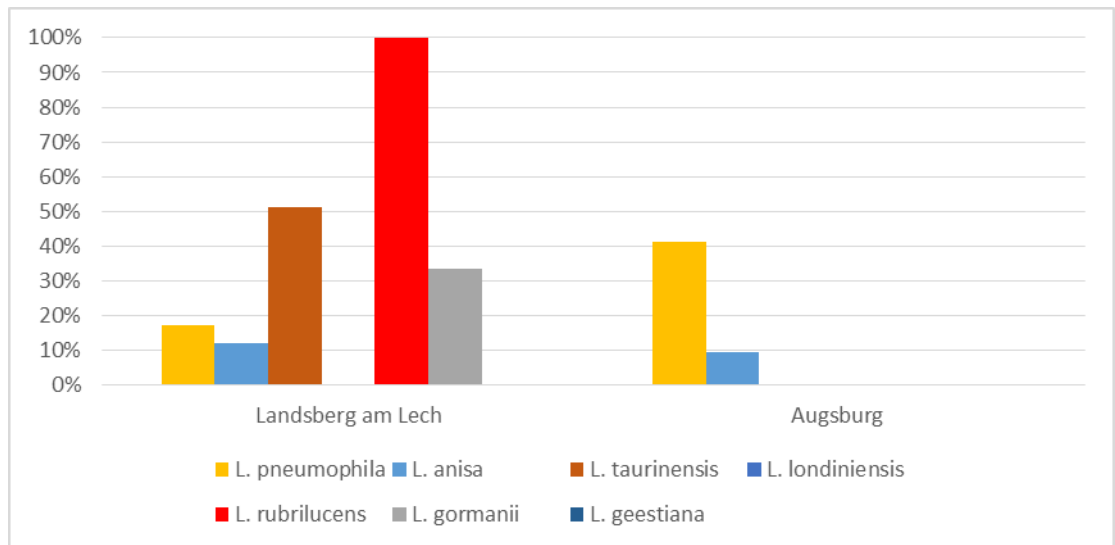


Abbildung 53: Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 86 in Bezug auf die jeweiligen Orte.

In keiner der beiden Städte wurden Kolonien von *L. londiniensis* und *L. geestiana* identifiziert. Landsberg hebt sich mit 100 % *L. rubrilucens*, 52% *L. taurinensis* und 33% der *L. gormanii* Kolonien aus deutlich von Augsburg ab, wo keine dieser Spezies identifiziert wurde.

12.6 Postleitzahlregion 89

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. bozemanii</i>
89	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Neu Ulm	23%	38%	0%	0%	17%	0%

Tabelle 55: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Neu-Ulm in Bezug auf die Postleitzahlregion 89

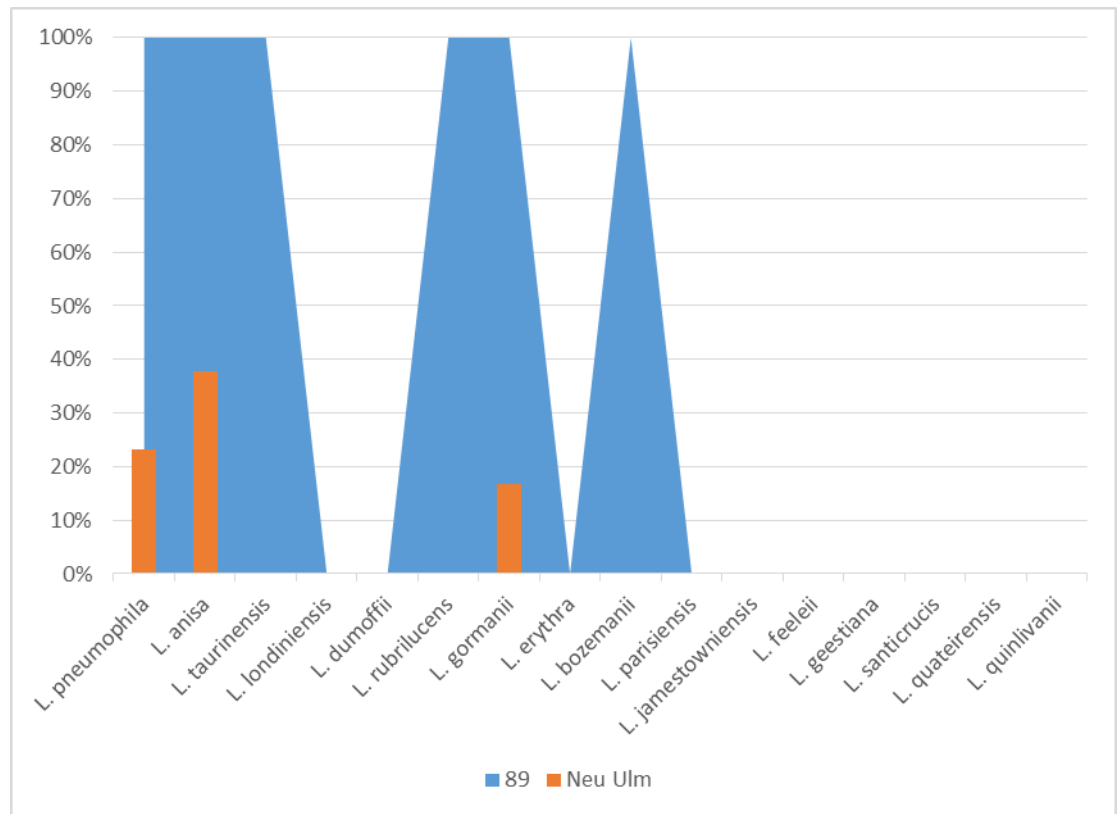


Abbildung 54: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 89 gegen die Legionellenbefunde aus Neu-Ulm

In Neu-Ulm konnten keine Kolonien als *L. taurinensis*, *L. rubrilucens* oder *L. bozemanii* identifiziert werden. Allerdings stammen 17% der *L. gormanii* Kolonien aus Neu-Ulm.

12.7 Postleitzahlregion 90

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. bozemanii</i>
Nürnberg	36%	61%	96%	0%	100%	78%	100%
Fürth	20%	20%	0%	100%	0%	11%	0%

Tabelle 56: Anteil der gefundenen *L. spp.* je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 90

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

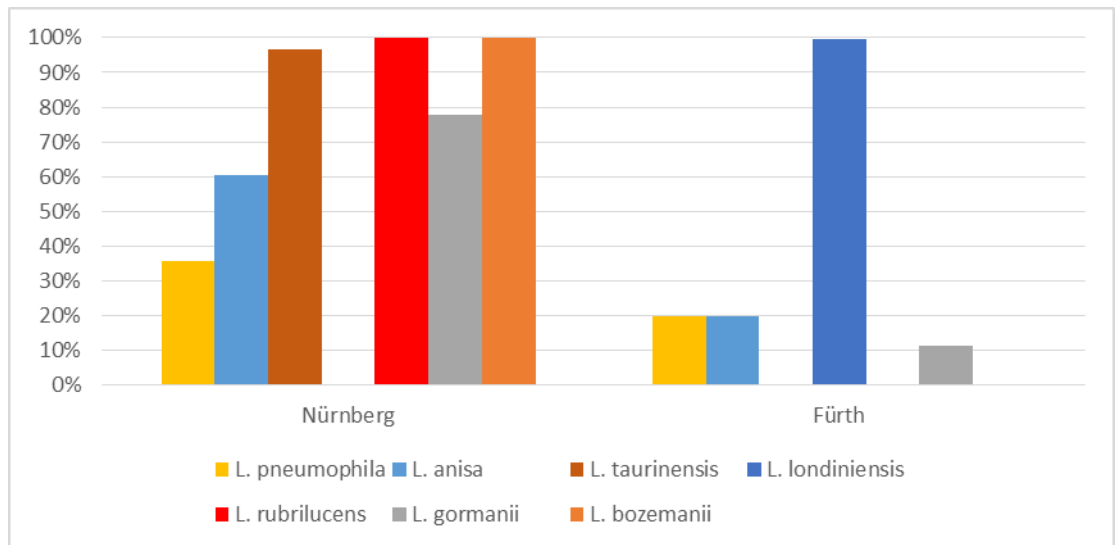


Abbildung 55: Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 90 in Bezug auf die jeweiligen Orte.

In Nürnberg wurden alle *L. rubrilucens* und *L. bozemanii* der Region gefunden. Außerdem wurden 96% *L. taurinensis* hier zugeordnet. In Fürth konnten keine *L. taurinensis* identifiziert werden dafür wurden allerdings alle *L. londiniensis* Kolonien in Fürth gefunden.

12.8 Postleitzahlregion 91

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. bozemanii</i>
91	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Erlangen	25%	26%	55%	100%	0%	55%	100%

Tabelle 57: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Erlangen in Bezug auf die Postleitzahlregion 91

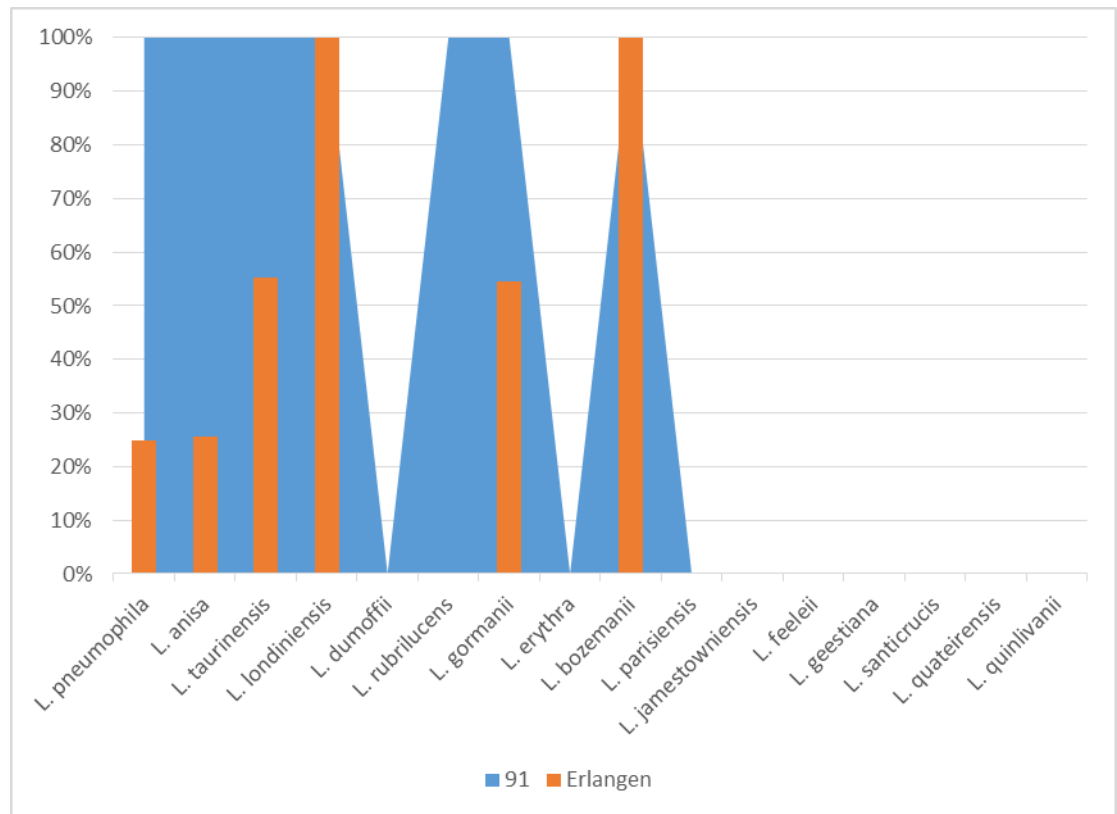


Abbildung 56: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 91 gegen die Legionellenbefunde aus Erlangen

Alle Kolonien, die als *L. londiniensis* und *L. bozemanii* identifiziert wurden, stammen aus Erlangen. Die Hälfte der *L. taurinensis* (55 %) und *L. gormanii* (55%) Kolonien wurden ebenfalls von Proben aus Erlangen isoliert.

12.9 Postleitzahlregion 93

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. gormanii</i>
93	100%	100%	100%	100%
Regensburg	34%	38%	0%	0%

Tabelle 58: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Regensburg in Bezug auf die Postleitzahlregion 93

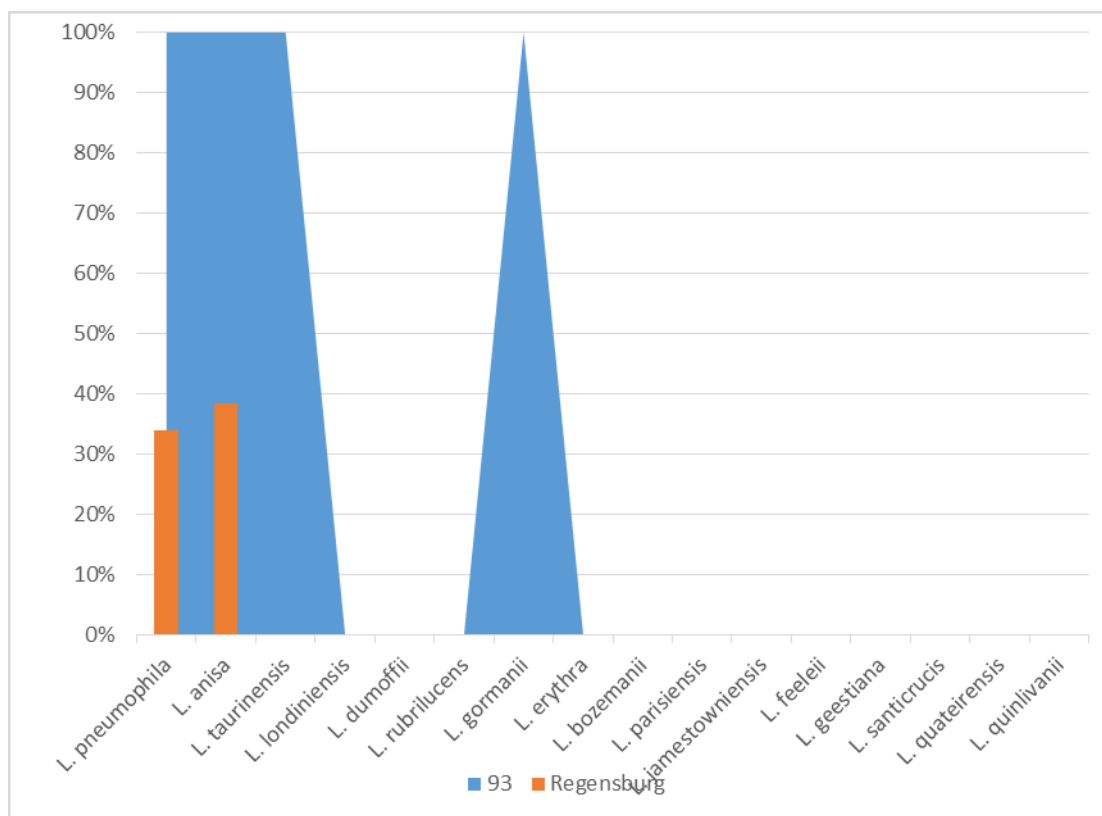


Abbildung 57: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 93 gegen die Legionellenbefunde aus Regensburg

In Regensburg konnten nur *L. pneumophila* und *L. anisa* isoliert werden.

12.10 Postleitzahlregion 94

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. jamestowniensis</i>
Straubing	42%	9%	0%	0%	0%	0%	0%
Passau	5%	49%	50%	100%	33%	0%	0%

Tabelle 59: Anteil der gefundenen *L. spp.* je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 94

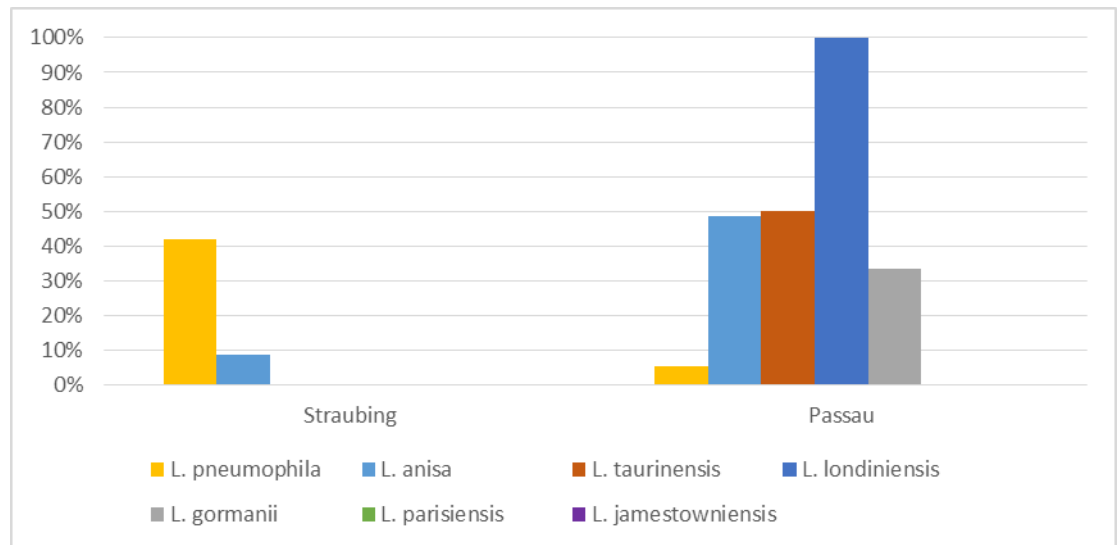


Abbildung 58: Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 94 in Bezug auf die jeweiligen Orte.

Straubing hat einen hohen Anteil an *L. pneumophila*, während in Passau sehr viele verschiedene *L. spp.* isoliert werden konnten. so lag der Anteil von *L. anisa* bei 49% und von *L. taurinensis* bei 50% der Kolonien. Alle *L. londiniensis* Kolonien dieser Region und 33 % *L. gormanii* stammen.

12.11 Postleitzahlregion 95

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. geestiana</i>
95	100%	100%	100%	100%	100%
Bayreuth	24%	0%	100%	0%	0%

Tabelle 60: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Bayreuth in Bezug auf die Postleitzahlregion 95

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

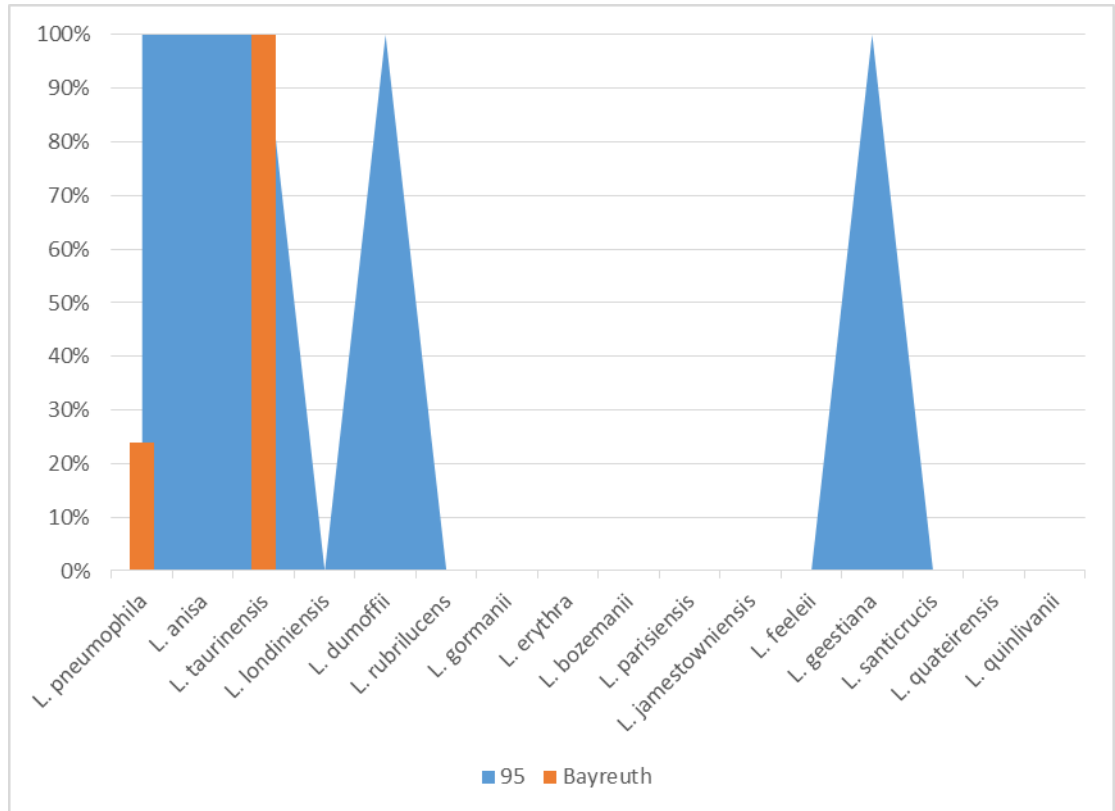


Abbildung 59: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 95 gegen die Legionellenbefunde aus Bayreuth

In Bayreuth wurde keine Kolonien als *L. anisa* identifiziert, dafür stammen alle *L. taurinensis* der Region aus dieser Stadt.

12.12 Postleitzahlregion 96

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. gormanii</i>
96	100%	100%	100%	100%
Bamberg	66%	32%	0%	100%

Tabelle 61: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Bamberg in Bezug auf die Postleitzahlregion 96

12 Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion

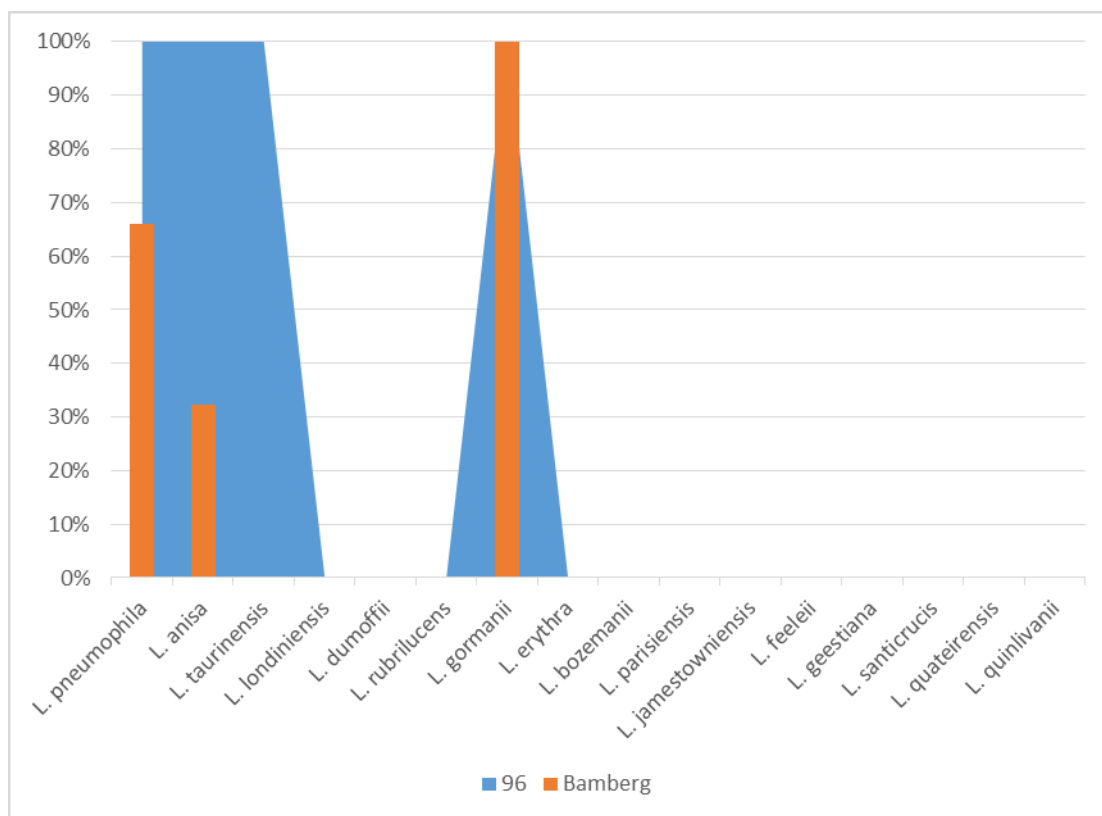


Abbildung 60: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 96 gegen die Legionellenbefunde aus Bamberg

In dieser Region stammen alle *L. gormanii* Kolonien aus Bamberg. *L. taurinensis* wurde nicht in Bamberg identifiziert.

12.13 Postleitzahlregion 97

PLZ	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. taurinensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. feeleyi</i>	<i>L. quinivarii</i>
97	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Schweinfurt	7%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Tabelle 62: Anteil der gefundenen *L. spp.* in Schweinfurt in Bezug auf die Postleitzahlregion 97

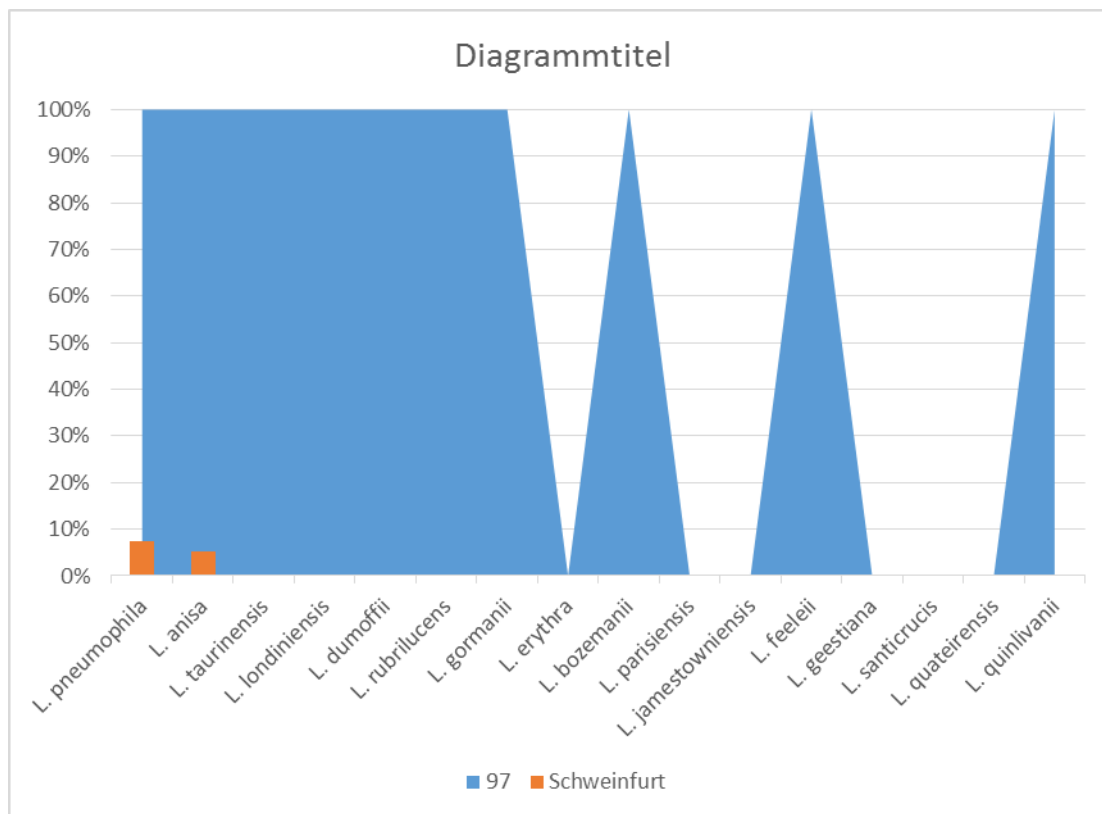


Abbildung 61: Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 97 gegen die Legionellenbefunde aus Schweinfurt

In Schweinfurt wurde nur Kolonien von *L. pneumophila* und *L. anisa* identifiziert.

13 Temperatur gegen verschiedene Legionellen

Während der Probenahme wurde die Temperatur mit einem kalibrierten Thermometer gemessen und dokumentiert. Um mögliche Einflüsse der Temperatur in Warmwassersystemen auf die verschiedenen Legionellen und deren Vorkommen beurteilen zu können, wurden Temperaturfenster von 5 K definiert (Z.B. das Temperaturfenster 5,1 °C bis 10,0 °C wird im Folgenden nur mit der abgerundeten Starttemperatur angegeben, um eine bessere Lesbarkeit zu gewährleisten.) und der relative Anteil der Legionellen im jeweiligen Intervall angegeben. Ergebnisse, bei denen keine valide MALDI-TOF Bestimmung möglich war, wurden als *L. spp.* zusammengefasst. Die Ergebnisse sind in Tabelle 63 zusammengefasst.

Temperaturintervall [°C]	<i>L. anisa</i>	<i>L. bozemaniae</i>	<i>L. dumofii</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. feeleii</i>	<i>L. geestiana</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. jamestowniensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. quateirensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. santacrucis</i>	<i>L. spp.</i>	<i>L. taurinensis</i>	Anzahl der verschiedenen Spezies im Temperaturintervall
5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	1
10	8,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	35,7	0,0	0,0	0,0	46,4	8,9	4
15	10,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	68,2	0,0	0,0	0,0	19,4	1,8	4
20	16,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	57,5	0,0	0,7	0,0	23,8	1,4	6
25	11,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	57,7	0,0	0,3	0,0	27,8	2,2	10
30	11,7	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,3	0,1	52,4	0,0	0,2	0,0	32,7	2,3	9
35	9,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,4	0,0	54,9	0,0	0,0	0,0	33,1	2,3	10
40	8,4	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	0,0	58,9	0,0	0,1	0,0	29,3	2,0	12
45	7,8	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,3	0,0	60,5	0,0	0,1	0,0	28,1	1,9	11
50	6,1	0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	1,3	0,1	63,1	0,0	0,2	0,0	26,0	2,5	14
55	5,7	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,4	0,0	1,3	0,0	65,4	0,0	0,3	0,0	24,2	2,5	13
60	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,9	0,0	72,0	0,0	0,2	0,0	20,0	1,8	7
65	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	75,7	0,0	0,0	0,0	14,8	0,0	4
70	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	67,7	0,0	0,0	0,0	24,2	8,1	3
75	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0
80	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1
85	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0

Tabelle 63: Relativer Anteil einer *L. spp.* im Temperaturintervall bezogen auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Auswertung beinhaltet den 100 mL und 1 mL Ansatz.

In **Abbildung 62** ist die beobachtete relative Verteilung der Legionellen im jeweiligen Temperaturintervall dargestellt.

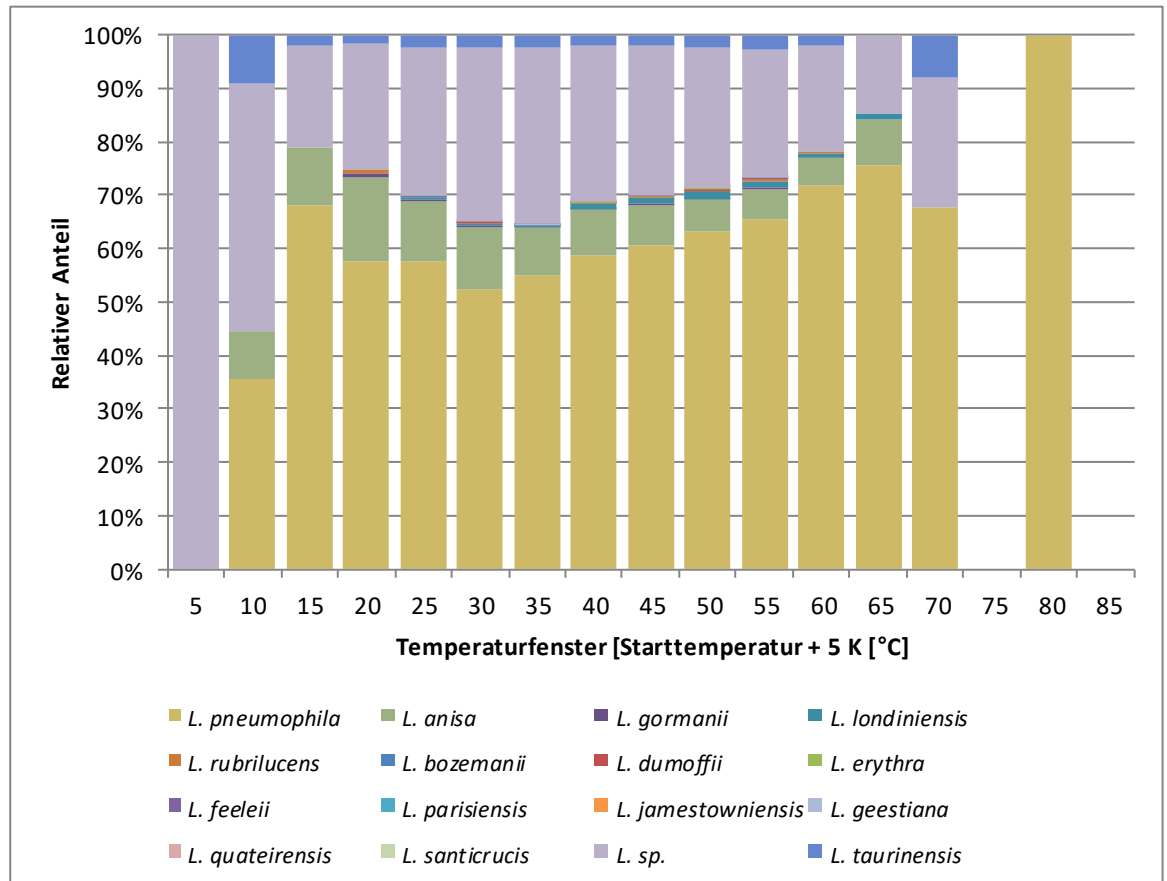


Abbildung 62: Relativer Anteil der *L. spezie*s im jeweiligen Temperaturintervall

Die Legionellen zeigen unterschiedliche Muster in Bezug auf ihren Nachweis bei unterschiedlichen Temperaturen. *L. pneumophila* hat in allen Temperaturbereichen den höchsten Anteil, ausgenommen des Temperaturintervalls 5 °C in dem keine Legionelle auf Speziesebene identifiziert werden konnte. *L. anisa*, als zweithäufigste Legionellenart, nimmt im Temperaturintervall 20 °C einen hohen Anteil von 18 % ein. Dieser Anteil fällt im Temperaturbereich von 25 °C bis 60 °C stetig auf 4,9 % ab. Bei den Temperaturbereichen 10 °C und 70 °C weist *L. taurinensis* einen relativ hohen Anteil im Vergleich zu den Temperaturbereichen 20 °C bis 60 °C auf.

Seltenere Spezies wie *L. geestiana* waren nur bei bestimmten Temperaturen, im Falle von *L. geestiana* bei 35 °C und 55 °C zu finden. Bei 55 °C konnte diese Spezies nur im 1 mL Ansatz gefunden werden, welcher nicht mit dem Säurepuffer behandelt wurde.

Die höchste Diversität lässt sich im Bereich zwischen 40 °C und 60 °C beobachten, während die Diversität oberhalb dieses Bereichs drastisch abfällt.

Diskussion

14 Gleichwertigkeit der klassischen Bestätigung mittels Cystein-Abhängigkeit und der MALDI-Biotyper-Bestätigung

Zur Modifikation einer normativ geregelten Methode ist es wichtig sicherzustellen, dass die Änderung keine Auswirkungen auf die Ergebnisse der Messung hat. In den Versuchen im Kapitel 6 „Untersuchung der Methoden- Gleichwertigkeit“ konnte gezeigt werden, dass das MALDI-TOF-Verfahren und die biochemische Bestätigung gleichwertig sind, da durch die hohe Übereinstimmung keine falschpositiven oder falschnegativen Ergebnisse vorlagen und somit nicht einmal die Poisson-Verteilung ermittelt werden konnte. Bei der Wiederholung der Messungen im IMHR konnten Stämme identifiziert werden, die bei AGROLAB nicht identifiziert werden konnten. Der wichtigste Unterschied bestand in der Tatsache, dass die Stämme im IMHR frisch aus eingefrorenem Material rekultiviert wurden. Dabei zeigten die Kulturen ein verlangsamtes Wachstum. Die Kolonien wuchsen sehr fein und ohne die typische schleimige Konsistenz.

Ein weiterer Unterschied lag im Alter der Kolonien (10 Tage bei AGROLAB) im Verhältnis zu 2 – 4 Tage alte Kolonien im IMHR. Die Kolonien hatten damit im IMHR ein ähnliches Alter wie die Kolonien, die zur Erstellung der Datenbankeinträge (2 bis 4 Tage je nach Stamm) bei Bruker verwendet wurden. Im Laufe der Alterung kommt es im Proteom zu Verschiebungen, die die Qualität der Identifizierung beeinflussen.

Um dieses Phänomen auszugleichen und zu einem schnellen Ergebnis zu kommen, wurde der modifizierte Ablauf entwickelt in Hinblick auf einen Routineeinsatz im Hochdurchsatzlabor. Dazu wurden folgende Festlegungen getroffen:

- Alle verdächtigen Kolonien, die zur Bestätigung ausgewählt werden, müssen eindeutig auf Gattungsebene identifiziert werden.
- Wird auch nur eine Kolonie nicht eindeutig identifiziert, wird die ganze Probe wiederholt. Auf diese Weise ist es nicht nötig, unterschiedliche Kolonien einer Probe zur Position auf dem Target zuzuordnen.
- Die Kolonien einer Probe werden getrennt nach 100 µL und 1 µL Ansatz mittels Direkttransfer überführt und gemessen.
- Proben, bei denen nicht alle Kolonien identifiziert werden konnten müssen auf BCYE und auf CASO überimpft und bei 36 °C bebrütet werden. Sobald auf der BCYE Wachstum zu erkennen ist, wird das Koloniematerial auf ein Target übertragen und im MALDI-Biotyper gemessen.

14 Gleichwertigkeit der klassischen Bestätigung mittels Cystein-Abhängigkeit und der MALDI-Biotyper-Bestätigung

- Ist es nicht möglich, eine Identifizierung bei der Wiederholung zu erzielen, wird die CASO-Platte zur Bewertung herangezogen und das Ergebnis gemäß der biochemischen Identifikation ermittelt.

Diese Regeln erlauben eine schnelle und zielführende Identifizierung, bei der das Verbrauchsmaterial auf ein Minimum reduziert werden kann und bei der eine Maximierung der Informationen möglich ist.

In einer weiteren Versuchsreihe, wurde das beschriebene Vorgehen, an 22.678 Kolonien überprüft. Bei 99,4 % der geprüften Kolonien war es möglich, einen Score über 1.700 zu erreichen. Somit mussten nur 0,6 % der Proben mittels biochemischer Verfahren identifiziert werden.

Derzeit sind noch nicht alle *L. spp.* beschrieben bzw. mit einem entsprechenden Eintrag in der Biotyper-Datenbank hinterlegt, so dass diese Legionellen im Idealfall auf der Gattungsebene passen, ohne auf Speziesebene identifiziert werden zu können. Weitere Faktoren wie Reagenzien, Präparation und Alterung der Kolonie erklären die 0,6 % der Kolonien, die nicht mit dem MALDI-Biotyper identifiziert werden können.

Durch den Einsatz des MALDI-TOF Biotypers konnten die Ergebnisse nach 10 Tagen, also 2 Tage schneller als bei der herkömmlichen Bestätigung geliefert werden. Ein enormer Zeitvorteil, wenn es bei hochkontaminierten Systemen, um die direkte Gefahrenabwehr geht.

Neben dem zeitlichen Vorteil, konnte auch eine größere Menge an Nährmedienplatten eingespart werden. Für die Bestätigung waren statt 45.356 nur 820 Agarplatten notwendig. Basierend auf der Preisliste von Becton Dickinson (Anon, 2015) konnten hierdurch die Kosten von € 59.189 auf € 1.070, d.h. um über 90 % gesenkt werden.

Die Einsparung von Material hat außerdem ökologische Vorteile, die derzeit nicht exakt beziffert werden können. Es werden weniger Rohstoffe und Energie für Herstellung, Transport, Lagerung und Entsorgung verbraucht.

Die MALDI-TOF Technik hat also zeitliche, ökonomische und ökologische Vorteile, so dass diese Technik auch in die entsprechenden Normen ISO 11731 - Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Legionellen übernommen werden sollte.

Der große Vorteil beim Einsatz der MALDI-TOF Technologie ist ein Zusatzgewinn an Informationen über die vorhandenen *L. spezie*s.

15 Die Legionellensituation in Süddeutschland

Im ersten Ansatz wurde die Legionellensituation in Süddeutschland erfasst und in Kapitel 7 „Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination“ zusammengestellt. Die zusammengefassten Ergebnisse der Untersuchungen beziehen sich auf über 23.000 Warmwasserinstallationen in Deutschland und bilden einen Querschnitt über den Ist-Zustand der Warmwasseranlagen in Deutschland. Ca. 2,5 % der untersuchten Warmwasseranlagen versorgen Schulen und Kindergärten, 1,0 % Sporteinrichtungen (die nicht im Zusammenhang mit Schulen stehen bzw. über eine eigene Warmwasserversorgung verfügen), ca. 0,5 % öffentliche Gebäude (z.B. Amtsgebäude), ca. 1,0 % Hotels und andere Übernachtungseinrichtungen, ca. 1,6 % Kliniken, Pflege- und Seniorenwohnheime und ca. 93,4 % sonstige Anlagen (Firmen und Wohnanlagen). Die Auswahl und Anzahl der Entnahmestellen in der jeweiligen Warmwasserinstallation erfolgte nach Vorgaben des Gesundheitsamtes bzw. unter Berücksichtigung der UBA-Empfehlung. Der Mindestumfang der Beprobung für eine Warmwasserversorgung betrug eine Boiler-Auslauf- und Boiler-Rücklauf-Probe sowie eine Probe von einer entfernten Entnahmestelle. Bei komplexen und größeren Anlagen wurden entsprechend mehr Proben entnommen.

Für diese Arbeit wurde die Klassifizierung „geringe Kontamination“ aus dem DVGW Arbeitsblatt W551 unterteilt in „Keine Kontamination“ – Keine Legionellen in 100 mL nachweisbar und in „geringe Kontamination“ mit einer Legionellen-Belastung 1 – 100 KbE/100 mL. Ziel dieser Aufteilung war es eine bessere Übersicht zu erhalten hinsichtlich der Verteilung von unbelasteten Anlagen aber auch Anlagen, die zwar den technischen Maßnahmewert einhalten, aber dennoch mit Legionellen belastet sind. Allerdings muss bei dieser Aufteilung berücksichtigt werden, dass es sich um eine Stichprobe nach mikrobiologischen Maßstäben handelt, d. h. ein negatives Ergebnis heißt nicht zwangsläufig, dass die Probe frei von Legionellen ist, sondern nur, dass eventuell vorhandene Legionellen nicht kultivierbar waren bzw. in so geringen Mengen vorkommen, dass diese außerhalb des Messbereiches liegen. Trotz dieser Einschränkung erlaubt die vorgenommene Einteilung eine detaillierte Betrachtung der Messergebnisse.

Der technische Maßnahmewert wurde bei der großen Mehrheit von fast 92 % der Proben eingehalten. Bei genauerer Betrachtung sieht man allerdings, dass zwar in über 79 % der Proben keine Legionellen gefunden wurden, aber fast 13 % der Proben dennoch eine geringe Belastung mit Legionellen aufwiesen. Dies ist insofern bedeutsam, da eine Änderung der Betriebsbedingungen in der Warmwasseranlage – und sei es nur lokal – rasch zu einer Vermehrung der Legionellen und damit zu einer Überschreitung des technischen Maßnahmewertes führen und gegebenenfalls eine Gesundheitsgefährdung für den Nutzer mit sich bringen kann.

16 Probenahmetemperaturen

16.1 Maximal erreichbare Temperatur

Bei der Probenahme werden gemäß der UBA-Empfehlung zwei Temperaturen ermittelt, zum einen die Temperatur bei der Probenahme und zum anderen die maximal erreichbare Temperatur. Die Aussagekraft der beiden Temperaturangaben in Zusammenhang mit Legionellen war nicht bekannt, so dass in Kapitel 7.2 „Maximal erreichbare Temperatur“ die Anzahl der ermittelten Legionellen gegen die maximalerreichbare Temperatur ausgewertet wurde. Bei dieser Auswertung zeigen die Daten in Tabelle 7 bzw. in Abbildung 2, dass im Bereich zwischen 20 °C und 55 °C der Anteil an positiven Proben deutlich höher war und erst ab einer Temperatur von über 55 °C ein Rückgang der mit Legionellen belasteten Proben zu verzeichnen war. Diese Beobachtung ist nicht überraschend, da Legionellen sich in Temperaturbereich zwischen 20 °C und 55 °C gut vermehren können und erst bei Temperaturen oberhalb dieses Bereiches zunächst das Wachstum einstellen und schließlich absterben.

Auch bei Warmwasserinstallationen, die nicht in Betrieb waren oder eine extrem schlechte Isolierung aufweisen (Temperaturen unter 25 °C) waren Legionellen in hoher Frequenz nachweisbar.

Im Temperaturbereich > 55 °C kam es noch immer zu Überschreitungen des technischen Maßnahmewertes (siehe Abbildung 3 und Tabelle 8). Allerdings wurde bei Temperaturen > 60 °C nur noch bei 2 % der Proben der technische Maßnahmewert überschritten. Somit zeigt sich, dass die Temperaturempfehlung aus DIN 1988 wirklich nur eine Untergrenze darstellt, wenn das Risiko einer Legionellenbesiedelung minimiert werden soll.

16.2 Temperatur bei der Probenahme

Die zweite zu ermittelnde Temperatur ist die Temperatur bei der Probenahme die Ergebnisse sind in Kapitel 7.3 „Temperatur bei der Probenahme“ zusammengestellt. Hier lässt sich im Bereich zwischen 20 °C und 55 °C das gleiche Phänomen wie bei der maximal erreichbaren Temperatur beobachten (vgl. hierzu Tabelle 9 bzw. Abbildung 4). In diesem Temperaturbereich liegt auch hier erwartungsgemäß ein höherer Anteil an positiven Proben vor und erst ab einer Temperatur von größer 55°C ist ein Rückgang der Belastungen zu verzeichnen. Im Temperaturbereich > 55°C kam es in Einzelfällen ebenfalls zu Überschreitungen des technischen Maßnahmewertes, während bei Temperaturen > 60 °C nur noch bei 0,25 % der Proben der technische Maßnahmewert überschritten wurde.

Vergleicht man die Temperatur bei der Probenahme mit der maximal erreichbaren Temperatur, so wird deutlich, dass die Temperatur bei der Probenahme der wichtigere Parameter in Bezug auf die Legionellen-Kontamination ist. Diese Beobachtung lässt sich damit erklären, dass die Temperatur bei der Probenahme diejenige Temperatur darstellt, die an der Entnahmestelle mit hoher Wahrscheinlichkeit tatsächlich anliegt und somit direkt auf eventuell vorhandene Legionellen einwirken kann. Allerdings ist dieser Parameter auch deutlich schwieriger zu steuern, da hier nicht nur

technische Faktoren wie die Strecke bzw. Entfernung von der Zirkulationsleitung, sondern auch nutzerabhängige Faktoren wie Entnahmemenge oder Nutzungshäufigkeit der Entnahmestelle großen Einfluss haben.

16.3 Temperaturdifferenz

Um die maximal erreichbare Temperatur und die Temperatur bei der Probenahme in Zusammenhang zu bringen, wurde die Temperaturdifferenz berechnet und mit der vorliegenden Legionellenbelastung in Beziehung gesetzt (Abbildung 7 und Abbildung 8). Für Abbildung 7 wurden die Proben ohne Kontamination nicht berücksichtigt, um so eine bessere Übersicht über die Verteilung der Belastungsgrade bei belasteten Proben zu erhalten.

Bei dieser Auswertung fällt auf, dass bei einigen Probeentnahmestellen auch bei längerem Spülen keine höhere Temperatur als bei der initialen Probenahme erreicht wird. Bei über 80 Probenahmestellen fiel die Temperatur beim Versuch, die maximale Temperatur zu erreichen, sogar um mehr als 10 K ab. Bezogen auf die Gesamtzahl der Proben (135.078) ist dieser Anteil der Proben mit abfallenden Temperaturen allerdings recht gering. Die möglichen Ursachen waren, dass die Warmwasseranlage zum Entnahmezeitpunkt nicht ordnungsgemäß in Betrieb war, keine Zirkulationsleitung vorlag (Insbesondere bei älteren Installation) oder eine schlechte Thermoisolation des Leitungssystems.

Bei 55 % der Probenahmestellen war die Temperaturdifferenz zwischen Probenahme und max. Temperatur kleiner 5 K. In diesem Bereich lag der Anteil der Proben mit Legionellenbelastungen bei 4,5%. Mit steigender Temperaturdifferenz steigt auch die Wahrscheinlichkeit einer Überschreitung des technischen Maßnahmewertes. Beispielsweise ist bei einer Temperaturdifferenz von 0 - 2 K der technische Maßnahmewert bei nur 4 % der Proben nicht eingehalten, während bei einer Differenz von 16 – 18 K mit 9 % mehr als doppelt so viele Proben den technischen Maßnahmewert überschreiten. Diese Beobachtung lässt sich damit erklären, dass die hohen Temperaturdifferenzen durch weiter von der Zirkulationsleitung entfernt liegende und schlecht isoliert Zapfstellen verursacht werden. Somit wird an diesen Entnahmestellen die maximale Temperatur nur während längerer Nutzung erreicht, mit der Folge, dass diese Temperatur nur relativ kurz bzw. gelegentlich auf die Legionellen einwirkt diese somit nicht bzw. nicht ausreichend abgetötet werden können.

Die Auswertungen zeigen, dass Temperaturen einen wichtigen Einfluss- und Regulierungsfaktor auf die Legionellen darstellen. Allerdings kann man auch erkennen, dass die Temperatur nicht der allein entscheidende Faktor ist, da im Temperaturbereich zwischen 25 °C und 50 °C deutlich mehr als 60 % der Proben keine Kontamination aufweisen und über 85 % der Proben den technischen Maßnahmewert einhalten. Es ist also durchaus möglich, durch geeignete technische Maßnahmen und sachgerechten Betrieb Warmwasseranlagen in moderaten Temperaturbereichen zu betreiben, ohne dass diese Anlagen von Legionellen besiedelt werden.

Auf der anderen Seite zeigen die Daten auch, dass der Betrieb einer Warmwasseranlage mit $> 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ eine Legionellenkontamination nicht vollständig ausschließt. Sogar bei Anlagen mit einer maximal erreichbaren Temperatur von $> 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ konnten in 4 Proben Legionellen nachgewiesen werden, wobei eine Probe sogar den technischen Maßnahmewert überschritt. Vor diesem Hintergrund ist die momentan empfohlene Praxis, bei einem Legionellenbefall eine Gefährdungsanalyse mit einer Einzelfallbetrachtung der betroffenen Warmwasserinstallation durchzuführen, das Mittel der Wahl, um so eventuell vorhandene technische Mängel, z. B. Totleitungen oder lange Strecken zwischen Zirkulation und Entnahmestelle zu identifizieren und beseitigen zu können. Ebenso ist der Rückbau von Entnahmestellen, die keine Anwendung finden und in denen das Wasser stagniert, eine wichtige Option zur Vermeidung und Bekämpfung von Legionellenbefall. Alternativ finden sich auf dem Markt mittlerweile auch technische Systeme, die automatisch und regelmäßig selten genutzte Entnahmestellen spülen und somit sicherstellen, dass die gesamte Warmwasseranlage regelmäßig durchspült wird. Solche Systeme könnten etwa für Schulen geeignet sein, um auch während der Ferienzeit einen ausreichenden Wasseraustausch zu gewährleisten oder für Firmen, die Duschen vorhalten müssen, welche aber tatsächlich nur sporadisch genutzt werden.

Eine thermische Desinfektion erfolgt mit mindestens $73\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bei Installationen mit $> 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ als maximal erreichbarer Temperatur liegt somit eine Dauerdesinfektion vor. Dass hier trotz dieser hohen Temperatur in einigen Fällen Legionellen nachweisbar waren, zeigt die Notwendigkeit einer Gefährdungsanalyse vor der Durchführung einer Desinfektionsmaßnahme. Erst die eingehende Prüfung und gegebenenfalls Anpassung des technischen Standes einer Anlage verhindert zuverlässig eine Wiederbesiedelung aus der Anlage selbst heraus und gewährleistet nachhaltig den Erfolg von (thermischen) Desinfektionsmaßnahmen.

17 Medizinische Relevanz der verschiedenen Legionellen Arten

Nach dem nun ein Überblick über die Legionellensituation der süddeutschen Warmwasserversorgungen und den erhobenen Parametern besteht, konnten die Zusatzinformation aus der MALDI-TOF Analyse einfließen.

Insgesamt wurden 14 *L. spp.* gefunden, von denen 8 Arten (*L. anisa*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. erythra*, *L. feeleii*, *L. gormanii*, *L. parisiensis* und *L. pneumophila*) im Zusammenhang mit klinischen Fällen beschrieben sind. Bei 6 der isolierten Legionellenarten (*L. geestiana*, *L. jamestowniensis*, *L. londoniensis*, *L. rubrilucens*, *L. santicrucis* und *L. taurinensis*) sind bisher keine klinischen Fälle beschrieben (vgl. Tabelle 1). In den Wasserproben wurde hauptsächlich *L. pneumophila* mit 62,01 % der identifizierten Kolonien und 21,84 % *L. spp.* wahrscheinlich *L. pneumophila* gefunden.

Zwar ist dieser direkte Vergleich von der Datenlage her nicht statthaft, dennoch werden laut Epidemiologischen Bulletin des Robert-Koch-Instituts (Robert Koch Institute, 2013, 2014) 80 – 85 % der Legionelleninfektionen durch *L. pneumophila* verursacht, also ein ähnlicher Anteil, wie in den Hausinstallationen gefunden wurde. Nur 2,5 % der gemeldeten Legionellenerkrankungen rühren von NON-*L. pneumophila* Spezies her. Die Spezies werden im Epidemiologischen Bulletin allerdings nicht näher aufgeschlüsselt.

L. anisa, die zweithäufigste *L. sp.* in den Hausinstallationen wird vom Robert-Koch-Institut als wahrscheinlich pathogen eingestuft, während bei *L. taurinensis* und *L. londoniensis*, die auch häufig nachweisbar waren, zurzeit kein Zusammenhang mit klinischen Fällen bekannt ist.

In dem Epidemiologischen Bulletin wird darauf hingewiesen, dass bei den Meldezahlen im Bereich der Legionellen mit einer extrem hohen Dunkelziffer zu rechnen ist. Die Ärzte sind mittlerweile gegenüber Legionellen-Infektionen sensibilisiert, wodurch in der Routinediagnostik verstärkt Legionellen Antigentest im Urin durchgeführt werden. Mit allen Urin-derzeitig verfügbaren Antigentests werden in der Regel aber nur Infektionen durch *L. pneumophila* der Serogruppe 1 und gelegentlich einige kreuzreagierende andere Serogruppen angezeigt, was zu einer Konzentrierung auf *L. pneumophila* bei der Meldung und einer Nichterfassung anderer Legionellenarten bei diesen diagnostischen Erhebungen führt. Generell sind die diagnostischen Systeme auf *L. pneumophila* optimiert, so dass andere Legionellenarten nicht detektiert oder nur als *L. spp.* berichtet werden. Neuere Studien zeigen sogar, dass *L. spp.* mit den üblichen Labortests falsch negativ diagnostiziert werden (Anderson *et al.*, 2016, Vaccaro *et al.*, 2016). In Spanien wurde gezeigt, dass über 94% der Legionellenuntersuchungen mittels Antigentest im Urin erfolgen. Bei der Studie von Vaccaro *et al.*, 2016 wurden 1/3 der Legionelleninfektion mit den Routinetestsystemen nicht erfasst, da diese durch *L. spp.* und *L. anisa* ausgelöst wurden.

Bei dem kulturellen Nachweis von Legionellen lassen sich generell die verschiedenen Arten gut identifizieren. Für die Kultur wird aber geeignetes Untersuchungsmaterial benötigt. Legionelleninfektionen zeigen als Symptom einen unproduktiven Husten, so dass häufig kein Sputum als Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht. Als geeignetes Material wird eine Bronchiallavage favorisiert (Burkhardt, 1992, Darai, G; 2003). Die Gewinnung dieses Materials stellt für den Patienten einen „größeren“ Eingriff da, so dass eine Bronchiallavage häufig nur bei schweren Erkrankungen durchgeführt wird.

Eine andere Erklärung für die seltenere Beschreibung von Infektionen mit NON-*L. pneumophila* Spezies wäre, dass NON-*L. pneumophila* Infektionen mildere Symptome auslösen, so dass die Patienten keinen Arzt konsultieren oder vom Arzt keine Laboruntersuchung auf Legionellen eingeleitet wird.

Es ist ebenfalls denkbar, das Wasser nicht der Hauptinfektionsweg für NON-*pneumophila* species ist. Beispielsweise wird *L. micdadei* häufig über Kompost auf den Menschen übertragen (van Heijnsbergen, 2015).

Um die Rolle der NON-*L. pneumophila* Spezies bei Infektionen besser zu beleuchten, könnten diese Spezies systematisch nach genetisch codierten Pathogenitätsfaktoren, wie diese bei *L. pneumophila* bekannt sind (Flieger *et al*, 2003), untersucht werden. Ebenso wäre eine Studie denkbar, bei der Hausärzte von Patienten mit grippeähnlichen Symptomen gezielt Material zur kulturellen Untersuchung oder zur molekularbiologischen Untersuchung (PCR auf *L. spp.* mit anschließender Sequenzierung) einsenden, um so die Dunkelziffer der nicht diagnostizierten Legionellen-Infektionen zu reduzieren.

Die Rolle der NON-*L. pneumophila* Spezies ist auch deshalb wichtig, um die Gefährdungen richtig einschätzen zu können. In Frankreich, werden Trinkwasserproben nur auf *L. pneumophila* untersucht, mit dem Argument, dass Infektionen gemäß der Fachliteratur hauptsächlich von diesem Erreger ausgelöst werden. In Deutschland wird gerade das Bundesemissionsschutzgesetz erarbeitet, mit dem Blick auf Verdunstungskühlanlagen und deren Legionellenbelastung. In diesem Rahmen wurde ebenfalls diskutiert, ob eine Untersuchung auf *L. pneumophila* nicht ausreichend ist. Diese Überlegung wurde deshalb verworfen, weil die ISO-Methode als Ergebnis *L. spp.* liefert. Gerade vor dem Hintergrund, dass die aktuelle Gesetzgebung durch die Erhebung der Infektionsdaten beeinflusst wird, macht es nötig, Systeme und Verfahren zu entwickeln, die alle *L. spp.* als Infektionserreger detektieren und im Idealfall auch identifizieren können.

In verschiedenen Arbeiten (Bhopal RS.,1993, Lo Presti F *et al.*, 2000) wurde festgestellt, dass sich die Legionelleninfektionen in geographischen Gebieten deutlich voneinander unterscheiden bzw. in einer Region Infektionen mit „selteneren“ *L. spp.* wie *L. oakridgensis* vorkommen. Bhopal (Bhopal RS.,1993) verglich dazu mehrere epidemiologische Studien miteinander und kam zu dem Ergebnis, dass auch unter Berücksichtigung der verschiedenen Verfahren, Definitionen und Fallzahlen je Studie, geographisch sehr unterschiedliche Infektionshäufigkeiten auftreten. Die führt er auf

geographisch unterschiedliche Legionellenvorkommen zurück. Die Verteilungen der Legionellen in Abhängigkeit zum Gebiet konnte in dieser Arbeit gezeigt werden.

18 Legionellen in Hausinstallationen

Zahlen zu der Belastung von verschiedenen Legionellen-Arten in Hausinstallationen sind bisher eher selten, häufig lassen sich in der Literatur Beschreibungen über Legionellenbefälle in Kliniken und Hotels finden, bei den die isolierten Legionellen identifiziert wurden (van der Mee-Marquet, 2006; Svarrer *et al.*, 2012; Vaccaro *et al.*, 2016). Die meist isolierte *Legionellen spezie*s war hierbei die *L. pneumophila*. Dies deckt sich auch mit den Daten in dieser Arbeit.

Neben den Legionellen erlaubte die MALDI-TOF Analyse auch einen Blick auf die Begleitflora, die als verdächtige *L.* Kolonien auf dem GVPC-Agar wachsen. Generell ist die Methode sehr spezifisch, so dass von 47.924 untersuchten Kolonien 120 (0,25 %) keine Legionellen waren. Dabei wurden hauptsächlich verschiedene *Acinetobacter spp.* und *Staphylococcus spp.* isoliert. *Acinetobacter* und einige anderen Bakterien, sind dafür bekannt, dass sie in Wassersystemen vorkommen (Berry, 2006; Holinger, 2015). Die Nachweismethode nach ISO 11731 für *L. spp.* ist sehr spezifisch und kann durch die Anwendung des MALDI-TOF Biotypers in der Aussagekraft und im Informationsgehalt verbessert werden.

In den Warmwasserinstallationen konnte 14 verschiedene Legionellenarten identifiziert werden. Bei der Analyse der einzelnen Hausinstallationen (vergleiche Kapitel 9 „Vorkommen von verschiedenen *L. spp.* in Hausinstallationen“) zeigte sich deutlich, dass in 3.050 Hausinstallationen (87,9 %) nur eine *L. sp.* identifiziert wurde. Immerhin bei 381 Objekten (11,0 %) konnten 2 verschiedene Spezies identifiziert werden. Drei verschiedene Spezies waren bei 36 Installationen (1,0 %) zu finden. Bei 3 Installationen konnten 4 verschiedene Spezies identifiziert werden. Bei einer eingehenderen Analyse zeigte sich, dass bei diesen Installationen eine sichere Identifizierung nur auf Gattungsebene möglich war, so dass eine Besiedelung mit mehr als 3 verschiedenen Legionellen eher als unwahrscheinlich anzusehen ist.

Bei dieser Auswertung muss berücksichtigt werden, dass die ganzen Verfahren auf *L. pneumophila* ausgelegt sind. Insbesondere die Einführung der ISO 11133 zeigt, dass das Wachstum von *L. anisa* als Prüfbakterium in der Qualitätskontrolle viele Hersteller vor größere Herausforderungen stellt, da diese Legionellen Spezies nicht auf jeder GVPC-Platte wächst.

Trotz dieser Einschränkung war *L. anisa* mit 8,98 % der identifizierten Kolonien, die zweithäufigste *L.* Spezies in Trinkwassersystemen.

Die bisherigen Ergebnisse weisen einige deutliche Trends auf:

- häufigste Legionelle: *L. pneumophila*
- Eine Warmwasserinstallation wird in der Regel dominant von einer Legionellen Spezies besiedelt.

Um die Ergebnisse detaillierter betrachten zu können, wurden in Kapitel 10 “Vorkommen und Verteilung von *L. spp.* in Süddeutschland“ gemäß der

ersten beiden Ziffern der Postleitzahl gruppiert und das Vorkommen in Karten eingezeichnet (vgl. Abbildung 12 bis Abbildung 18).

L. pneumophila kommt als häufigste Art in allen Gebieten vor, gefolgt von *L. anisa*, die nur im Gebiet 61 nicht zu finden war.

Das Vorkommen weiterer Spezies, besonders *L. erythra*, *L. feeli*, *L. dumoffii*, *L. bozemanii*, *L. parisiensis*, *L. geestina*, *L. jamestowniensis* und *L. santicrucis* scheint auf bestimmte geographische Regionen beschränkt zu sein.

Die Anzahl verschiedener Spezies innerhalb einer Postleitzahlregion ist sehr variabel. Es konnten keine Trends beobachtet werden, dass z. B. Metropolregionen mit einer höheren Anzahl an Proben, eine höhere Diversität aufweisen als ländlich geprägte Regionen. Mögliche Einflussfaktoren, wie die Wassergewinnungsart (z. B. Quelfassungen, Oberflächenwasseraufbereitung, Tief-, Schacht- und Flachbrunnen) und geologische Besonderheiten werden bei dieser Auswertung durch die Vielzahl der verschiedenen Wasserversorgungen in einer Postleitzahlregion verschleiert.

Eine mögliche Erklärung ist dennoch, dass durch die unterschiedliche Geologie und damit unterschiedliche Wasserzusammensetzung, unterschiedliche Biofilme in den Leitungen entstehen, die wiederum bestimmte Legionellen begünstigen könnten.

Die Probenzahl in den Postleitzahlgebieten war sehr unterschiedlich, deshalb wurde der Shannon-Wiener-Index berechnet (siehe Tabelle 16) und in Abbildung 19 dargestellt.

Bei einer gleichmäßigen Verteilung würde man bei höheren Probenzahlen eine höhere Diversität erwarten. In Abbildung 19 ist zu sehen, dass die Diversität bei kleineren Probenzahlen auch vorhanden ist. Ebenso liegen die errechneten Werte für die Gleichmäßigkeit dicht zusammen, so dass Einflüsse durch die Probenanzahl eher als unwahrscheinlich angesehen werden können.

In den verschiedenen Regionen konnten unterschiedliche Legionellenverteilungen bestimmt werden, die allerdings auf große Gebiete verteilt sind. Im nächsten Schritt wurden 25 Städte in Bayern eingehender betrachtet in dem hier die Auswertung auf einzelne Postleitzahlbereich ausgewertet wurde (siehe Legionellen in ausgewählten Postleitzahlgebieten und Städten“). Für die Städte wurde die Anzahl der Gebäude, die Anzahl der Wohnungen, das mittlere Alter der Gebäude und die Heizungsart ermittelt, um eine ungefähre Vorstellung zur Bausubstanz und den Warmwasseranlagen zu bekommen.

Mit der Änderung der Trinkwasserverordnung 2012 wurde die Meldung für untersuchungspflichtige Gebäude abgeschafft. Aus diesem Grund gibt es keine verlässlichen Zahlen, für wie viele Gebäude eine Untersuchungspflicht besteht.

Um eine ungefähre Einschätzung vornehmen zu können, wie repräsentativ die Datenlage in der jeweiligen Stadt bzw. im jeweiligen Postleitzahlgebiet ist, wurde der Anteil der untersuchten Gebäude berechnet. Aus Regensburg, liegt in dieser Arbeit mit 0,4 % der geringste Anteil an untersuchten Gebäuden vor, während der höchste Anteil in Landsberg am Lech mit 7,5 % der untersuchten Gebäude erreicht wurde.

Generell zeigen die Städte eine sehr ähnliche Belastung mit Legionellen. Die Ausnahme bildet Straubing. Hier ist bei mehr als 15 % der Proben eine mittlere Belastung nachweisbar, während in den anderen Städten dieser Anteil unter 10 % liegt. Straubing ist zu dem die Stadt mit der höchsten Rate mit dem Ergebnis $> 200 \text{ KbE} / 100 \text{ mL}$. Dieses Ergebnis kommt zustande, wenn der 1 mL – Ansatz überwachsen ist, nur der 100 mL – Ansatz ausgewertet werden kann. Aus diesem Ergebnis lässt sich die Aussage ableiten, dass das Wasser in Straubing mehr vermehrungsfähige Bakterien enthält, die im Legionellen-Direktansatz wachsen, als in anderen Städten.

In allen untersuchten Städten dominiert *L. pneumophila*.

L. anisa wurde nur in 14 Städten gefunden (Augsburg, Bamberg, Dachau, Erding, Freising, Fürstenfeldbruck, Ingolstadt, Landsberg am Lech, München, Nürnberg, Rosenheim, Starnberg, Straubing und Weilheim).

L. taurinensis konnte in 11 Städten nachgewiesen werden (Erding, Fürth, Garmisch-Partenkirchen, Germering, Landsberg am Lech, Landshut, München, Rosenheim, Starnberg, Straubing und Weilheim).

München konnten 11 verschiedene Legionellen-Arten identifiziert werden. In Erding wurden 8 verschiedene Legionellen gefunden.

Ein hoher Anteil wurde nur als *L. spp.* ohne weitere Identifikation ausgewertet. Dies hat mehrere Ursachen. Ein kleiner Teil ca. 0,6 % der Kolonien lässt sich, nur mit größerem Aufwand identifizieren, so dass dies in einem Routinebetrieb nicht möglich ist. Die Optimierung der Bearbeitung und der Datensammlung musste erst entwickelt werden. Bei einem Ausfall des MALDI-TOF Biotypers, muss die biochemische Bestätigung durchgeführt werden, um zeitnah die Ergebnisse zu erhalten. Eine nachträgliche Identifikation war auf Grund der Probenmenge nicht mehr möglich.

Um die Konsistenz des Datensatzes nicht zu verändern wurden alle Daten in der Form berücksichtigt, wie diese vorlagen, so dass ein größerer Anteil nur als *L. spp.* berücksichtigt wurde. Die Aussagekraft der Daten wird durch diese Einschränkungen nicht beeinflusst, da die Ereignisse zufällig eingetreten sind. Es kam somit zu keiner systematischen Beeinflussung der Ergebnisse.

Werden die Städte verglichen, zeigt sich, dass auch hier die verschiedenen Legionellen sehr punktuell auftreten.

Insbesondere bei München lassen sich detailliertere Beobachtungen machen. Die Stadt München erstreckt sich über zwei Postleitzahlregionen 80 und 81.

München wird von einem Wasserversorger beliefert. Die Hauptmenge des Wassers ca. 80% wird in drei Freispiegelwerke im Mangfalltal gewonnen und nach München geleitet.

Ein weiteres Versorgungsgebiet findet sich im Loisachtal. Vier Vertikal- und ein Horizontalfilterbrunnen liefern hier Wasser für München. Für den Spitzenbedarf stehen noch zusätzlich Brunnengruppen in der südlichen Münchner Schotterebene zur Verfügung. (www.swm.de)

Somit wird München aus verschiedenen Postleitzahlregionen mit Wasser versorgt. Die Hauptversorgung stammt aus der Region 83 gefolgt von 82 und 85.

Die in München gefundenen *L. spp.* wurden alle auch in den Versorgungsgebieten, die München beliefern, gefunden (siehe Tabelle 64).

	<i>L. anisa</i>	<i>L. bozemanæ</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. jamestowniensis</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. quateirensis</i>	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. santacrucis</i>	<i>L. taurinensis</i>
80+81	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
82	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
83	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
85	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+

Tabelle 64: Vergleich der *L. spp.* in München mit den Spezies aus den Wassereinzugsgebieten.

Lediglich *L. dumoffii* und *L. jamestowniensis* wurden in den Einzugsgebieten, aber nicht in München gefunden.

Es ist leider nicht möglich, die Wasserversorgungsgebiete verschiedenen Postleitzahlen zuzuordnen. Es ist nur möglich die wahrscheinlichsten Gebiete anzugeben. So wird der Südwesten der Stadt hauptsächlich aus der Region 82 und der Rest der Stadt aus dem Mangfalltal (Region 83) versorgt. Die Münchner Schotterebene (Region 85) tritt im Osten in der Stadt ein. *L. quateirensis* wurde nur im Bereich 81829 gefunden (siehe Abbildung 32). In diesem Gebiet liegt direkt ein Zusatzbrunnen, der den Stadtteil mit Wasser aus der Münchner Schotterebene versorgt. Diese Legionellenart wurde nur in diesem Gebiet und der Postleitzahlregion 85 isoliert.

Neben der Eigenversorgung gibt es zahlreiche Notleitungen, die die umliegenden Wasserversorgungen mit der Wasserversorgung München verbinden, um so bei Versorgungsengpässen ggf. Wasser austauschen zu können.

Die Daten legen zwei Möglichkeiten nahe.

1. Bestimmte Legionellen-Arten kommen nur in bestimmten Regionen vor.

2. Legionellen-Arten sind gleichmäßig verteilt, durch die Begleitflora im Wasser werden bestimmte Legionellen diskriminiert.

Ein zweites Gebiet, das diese Theorien bestätigt, bilden die Städte Nürnberg, Fürth und Erlangen. Sie haben jeweils eine eigenständige Wasserversorgung. Die Gemarkungen stoßen direkt aneinander. Das mittlere Alter der Gebäude ist annähernd gleich, ebenso wie die verschiedenen Heizungsarten und die Baujahre. Die Daten sind jeweils in Tabelle 65 dargestellt. Man kann Anhand dieser Daten, von einer sehr ähnlichen Bausubstanz und technischem Stand der Warmwasseranlagen ausgehen.

	Mittleres Gebäudealter [Jahre]	Anteil der Gebäude vor 1950 [%]	Anteil der Gebäude 1950 - 1969 [%]	Anteil der Gebäude 1970 - 1989 [%]	Anteil der Gebäude 1990 und später [%]	Anteil der Gebäude mit Fernheizung (Fernwärme) [%]	Anteil der Gebäude mit Etagenheizung [%]	Anteil der Gebäude mit Blockheizung [%]	Anteil der Gebäude mit Zentralheizung [%]	Anteil der Gebäude mit Einzel- /Mehrraumöfen [%]
Erlangen	48,7	17	33	28	22	10	4	1	79	6
Fürth	49,9	23	26	29	22	7	11	1	74	5
Nürnberg	51,6	24	36	26	14	13	11	1	67	8

Tabelle 65: Übersicht über das Alter der Gebäude sowie die Heizungsart (Daten aus Zensus 9. Mai 2011 zur Verfügung gestellt vom Statistischen Landesamt Bayern)

L. taurinensis wurde in Erlangen und Nürnberg gefunden nicht aber in Fürth. Die Funde liegen im Gebiet der Wasserversorgungsleitung aus dem Wasserwerk Genderkingen über die Teile von Nürnberg und von Erlangen versorgt werden (siehe Abbildung 63).

L. bozemanii wurde in Erlangen und Nürnberg gefunden nicht aber in Fürth.

L. londiniensis wurde in Fürth und Erlangen aber nicht in Nürnberg gefunden.

L. rubrilucens wurde nur in Nürnberg gefunden im Versorgungsgebiet „Zentral“

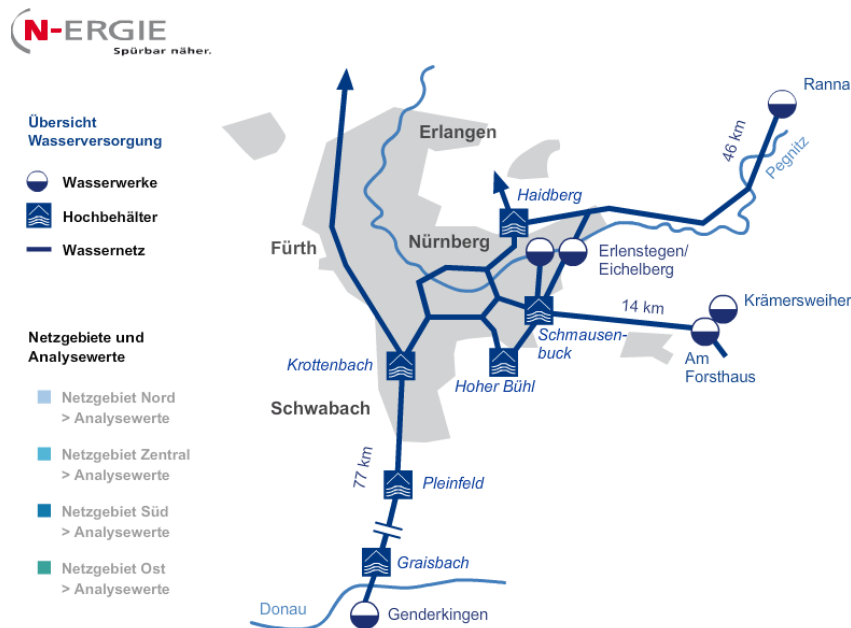


Abbildung 63 Wasserversorgung Nürnberg (<https://www.n-ergie.de/privatkunden/produkte/wasser/herkunft.html>)

Die gefundenen Legionellen und deren Verteilung decken sich mit den Wassergewinnungs- und -verteilungsgebieten.

Diese Beobachtung lässt sich auch in Kapitel 12 „Vergleich der Städte mit der Postleitzahlregion“ sehen. In dieser Auswertung wurden die Städte in die jeweiligen Postleitzahlgebiete eingeordnet und die Legionellen-Zusammensetzung verglichen. Die Postleitzahlregion wurde jeweils als absolut betrachtet und die Anteile der *L. spp.* aus den Städten berechnet und in den Tabellen dargestellt. Waren mehrere Städte in einer Region vorhanden, so wurden die Städte direkt miteinander verglichen.

Diese Art der Betrachtung erlaubt es, die Dominanz von *L. pneumophila* und *L. anisa* zu reduzieren und einen genaueren Blick auf die weiteren Legionellenarten zu werfen.

In allen Regionen zeigen sich Wasserversorgungen, die neben *L. anisa* und *L. pneumophila* eine Legionellenart besonders häufig aufweisen.

So konzentrieren sich in Germering, die Funde von *L. tauriniesis*. 43 % der Isolate von *L. tauriniesis*, die in der Region 82 gefunden wurden, stammen aus Germering.

In Rosenheim wurden alle *L. dumoffii* Kolonien der Region 83 gefunden. Dafür wurden keine Kolonien von *L. bozemanii* und *L. parisiensis* in Rosenheim gefunden.

Alle Funde von *L. rubrilucens* aus der Region 84 sind aus Landshut und 48 % der *L. taurinensis* Funde ebenfalls. Dafür wurde keine Kolonie als *L. gormanii*, *L. erythra* oder *L. feeleeii* in Landshut identifiziert.

In der Region 85 liegen die Städte Erding, Dachau, Ingolstadt und Freising. Die Diversität der Legionellen ist in Erding am größten. Hier wurden 7 verschiedene Legionellen identifiziert. 52 % von *L. taurinensis* aus der Region wurden in Erding gefunden. Außerdem sind alle Isolate von *L. dumoffii* und *L. quateirensis* aus Erding. Während die anderen Städte „nur“ *L. pneumophila* und *L. anisa* aufweisen.

Diese Daten weisen darauf hin, dass ein regionales spezifisches Vorkommen von bestimmten Legionellenarten vorliegt. Die Ursachen für diese regionalen Unterschiede können hier nicht geklärt werden. Denkbar ist, dass Legionellen auf Grund von geo- und ökologischen Bedingungen sehr spezifisch im Trinkwasser vorkommen oder dass die Legionellenarten gleichmäßig im Wasser vorkommen und durch die Biofilme diskriminiert oder exponiert werden. Auf jeden Fall bestätigen sich in dieser Arbeit die Daten aus verschiedenen Publikationen (Skaliy *et al.*, 1979; Fields *et al.*, 1984, Murga *et al.*, 2001 Rowbotham, 1980; Tyndall *et al.*, 1982; Fields *et al.*, 1984; Rowbotham, 1984; Wadowsky *et al.*, 1991, Fields *et al.* 1986, Fields, Benson & Besser, 2002), die die Symbiose von Legionellen mit anderen Organismen im Wasser zeigen.

Zum Ausschluss des Einflusses der Bausubstanz wurde versucht die Daten aus der Zensus-Umfrage 2011 in Hinblick auf die Legionellenkontaminationen auszuwerten. Zu den einzelnen Städten liegen Daten zu den Gebäuden vor. Für die verschiedenen Städte sind die Anzahl Gebäude, Anteile der Heizungsarten (Zentralheizung, Fernwärme etc.), das mittlere Alter der Gebäude und die Anzahl der Gebäude gestaffelt nach Jahrzehnt bekannt. Hierbei war es nicht möglich, einen Zusammenhang zwischen einem dieser Merkmale und der Legionellenbelastung bzw. -besiedelung zu erkennen. Die Proben wurden im Rahmen der Untersuchungspflicht nach TrinkwV gezogen. Von daher sind i. d. R. nur die Privatgebäude mit mindestens 3 Wohneinheiten, einem Boilervolumen > 400 L und oder einem Leitungsvolumen > 2 L mit einer zentralen Warmwasserversorgung, in dieser Arbeit erfasst. Falls zwischen Befall und Heizungsart oder Gebäudealter ein Zusammenhang besteht, reicht die Beprobungstiefe nicht aus, um diesen zu erkennen.

19 Temperaturabhängigkeiten der unterschiedlichen *L. spp.*

Neben den regionalen Unterschieden hat auch die Temperatur einen Einfluss auf die Besiedelung von Warmwassersystemen mit *L. spp.*. Verschiedene Arbeiten zeigten schon früher diesen Einfluss auf (z. B. Schwake, 2015; Rhoads *et al.*, 2015).

In Kapitel 13 „Temperatur gegen verschiedene Legionellen“ wurde der Anteil der gefundenen Legionellen-Arten in Abhängigkeit zu dem Temperaturfenster bei der Probenahme aufgetragen.

Die Daten zeigen den Unterschied zwischen den Erfahrungen der *in-vitro* Kultivierung auf einem festen Nährmedium und der Besiedelung in einem natürlichen System. Bei der *in-vitro* Kultur sind keine Unterschiede beim Wachstum auf Grund der Temperatur zwischen einzelnen *L. spp.* bekannt. In den Warmwassersystemen sind einige Spezies nur in sehr schmalen Temperaturfenstern zu finden. *L. pneumophila* zeigt sich auch hier als dominanteste Art.

Die meisten Arten (14 verschiedene Spezies) sind im Temperaturfenster 50 bis 59 °C zu finden. Das ist die Temperatur, die in den meisten Hausinstallationen erreicht und gehalten wird. Einige seltenere Arten treten in sehr eng begrenzten Temperaturintervallen auf. Zum Beispiel *L. santarosensis* war im Temperaturintervall 25 °C vertreten und *L. geestiana* bei 35 °C.

Bei einer gleichmäßigen Verteilung würden die Funde der verschiedenen *L. spp.* mit steigender Anzahl an Proben ebenfalls steigen. In diesem Fall konnten aber seltenere Arten bei bestimmten Temperaturen gehäuft gefunden werden, während bei Temperaturen mit höheren Probenzahlen, die Legionellen nicht identifiziert wurden.

Die Beobachtung lässt sich mit dem Biofilm erklären. Die Temperatur wirkt sich direkt auf den Biofilm aus und kann die Zusammensetzung ändern, so dass ggf. bestimmte Legionellen-Arten besser oder nicht mehr wachsen können. Bei der Komplexität der Umgebungsbedingungen, die auf die Mikroorganismen wirken, könnte die Temperatur somit ein Marker sein.

Um diese Beobachtung zu belegen müssen weitere Experimente durchgeführt werden. Hier wären zum Beispiel mehrere Versuchsanlagen denkbar, die mit unterschiedlichen Wassertemperaturen betrieben werden und durch automatische Spülgänge gleichartige Bedingungen haben. In diesen Anlagen könnte dann die *L. spp.* beobachtet werden und wie diese sich ansiedeln. Alternativ könnten bestehende Biofilme durch molekularbiologische Verfahren untersucht werden, um so die Gesamtheit des Mikrobioms zu erfassen.

20 Fazit und Ausblicke

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Bestätigung von Legionellen mit dem MALDI-TOF gleichwertige Ergebnisse wie die biochemische Bestätigung über die Cystein-Abhängigkeit liefert und darüber hinaus auch die Legionellen auf Speziesebene identifiziert. Mittels dieser zusätzlichen Daten, konnte gezeigt werden, dass eine Hausinstallation in der Regel mit einer *L. sp.* bzw. mit einer überschaubaren Zahl (max. 3) an verschiedenen *L. spp.* kontaminiert ist.

In verschiedenen Regionen ergeben sich deutliche Unterschiede in der Verteilung der gefundenen *L. spp.* bei relativ konstanter Anzahl an positiven Proben.

In einer Region bzw. in einem Wasserversorgungsgebiet ist die Legionellenzusammensetzung spezifisch.

Des Weiteren wurde die Bedeutung der Temperatur bei der Probenahme und der maximal erreichbaren Temperatur in Hausinstallationen und deren Einfluss auf die Legionellenkontamination dargestellt und zusätzlich gezeigt, dass in Hausinstallation eine Temperaturabhängigkeit der Legionellen besteht, die *in-vitro* nicht bekannt war.

Bei Einsatz des MALDI-TOF und einer zentralen Meldedatenbank für Hausinstallationen könnten die Informationen über die verschiedenen Legionellen erfasst werden und würden so verschiedene Auswerteszenarien erlauben, die noch offene Fragen beantworten können:

1. Abhängigkeit zum Brunnen

Bei einer konsequenten Identifikation von Legionellen könnte noch detaillierter und flächendeckend ausgewertet werden und somit die Verteilung der Legionellen innerhalb von Deutschland oder auch innerhalb von Europa ermittelt werden. Außerdem wäre es durch die erhöhte Datenmenge möglich, die Clusterung zu verkleinern und die Zusammensetzung auf einzelne Postleitzahlen oder besser auf Wasserversorgungsbereiche zu verringern, um so eventuell die Möglichkeit zu bekommen, die Legionellenzusammensetzung auf den Brunnen zurückzuführen. Brunnen mit ähnlicher Legionellenzusammensetzung könnten dann auf die im Wasser vorkommenden Nährstoffe hin untersucht werden, um so potentielle Wachstumsfaktoren zu ermitteln.

2. Abhängigkeit zur Umgebung

Durch eine engere Clusterung wäre es auch denkbar, Regionen und potentielle Eintragswege von bestimmten Legionellen zu ermitteln, die eventuell von der Filterwirkung des Bodens mehr oder minder beeinflusst sein könnten.

3. Abhängigkeit zum Biofilm

In den verschiedenen Regionen könnten auch die Zusammensetzung der Biofilme erforscht und verglichen werden, um so eventuell vorhandene Mikroorganismen zu finden, die Legionellenwachstum u. U. begünstigen könnten und die im Idealfall leichter zu eliminieren sein könnten als Legionellen selbst.

4. Erhebung vollständiger infektiologischer Studien

In einer kleineren Region, könnte eine gezielte Untersuchung der Bevölkerung erfolgen, um so die genauen Daten über Infektionen bzw. das Infektionsrisiko von Legionellen, sowie die Durchseuchung, zu bekommen.

Wie so oft in der Wissenschaft, folgt aus dem Versuch, wenigstens einige Frage zu beantworten, ein Vielfaches an neuen Fragen, die eine weitere intensive Forschung notwendig machen.

Anhang

21 Temperaturabhängigkeit der Legionellenkontamination

<i>Temperaturbereich ΔT</i>	<i>max. erreichbarer Bereich Probenanzahl (%)</i>	<i>Temperatur bei Probenahme Probenanzahl (%)</i>
0,1-5	0 (0,00)	21 (0,02)
5,1-10	431 (0,32)	95 (0,07)
10,1-15	473 (0,35)	510 (0,38)
15,1-20	348 (0,26)	1082 (0,80)
20,1-25	285 (0,21)	2779 (2,06)
25,1-30	570 (0,42)	4151 (3,07)
30,1-35	1402 (1,04)	7054 (5,22)
35,1-40	3319 (2,46)	10354 (7,67)
40,1-45	11547 (8,55)	15608 (11,55)
45,1-50	86 (0,06)	24302 (17,99)
50,1-55	33056 (24,47)	33407 (24,73)
55,1-60	50799 (37,61)	24746 (18,32)
60,1-65	23959 (17,74)	8393 (6,21)
65,1-70	4527 (3,35)	1693 (1,25)
70,1-75	896 (0,66)	346 (0,26)
75,1-80	171 (0,13)	60 (0,04)
80,1-85	18 (0,01)	8 (0,01)
85,1-90	3 (0,00)	1 (0,00)
90,1-95	2 (0,00)	1 (0,00)
Nicht bestimmt	3182 (2,36)	474 (0,35)

Tabelle 66: Anzahl der Zapfstellen je Temperaturbereich bei der Probenahme bzw. in Bezug auf die maximal erreichbare Temperatur

22 Legionellenverteilung in verschiedenen Postleitzahlgebieten

PLZ	L. pneumophila	L. anisa	L. taurinensis	L. londiniensis	L. dumoffii	L. rubrilucens	L. gormanii	L. erythra	L. bozemanii	L. parisiensis	L. jamestownensis	L. feeleii	L. geestiana	L. santacrucis	L. quateirensis	L. quinlivanii	Anzahl verschiedener Arten
35	81	31	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
60	158	109	0	0	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4
61	63	0	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
63	510	169	27	0	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
64	189	37	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
65	187	34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
80	4.761	177	160	0	0	0	4	5	1	1	0	0	0	0	0	0	7
81	4.903	202	156	137	0	8	0	2	0	0	0	0	0	6	1	0	8
82	5.430	795	292	8	0	64	39	11	4	3	1	0	0	0	0	0	10
83	6.054	509	130	5	1	3	13	0	2	1	0	0	0	0	0	0	9
84	1.572	249	33	0	0	1	3	13	0	0	0	2	0	0	0	0	7
85	4.134	649	344	1	22	8	10	5	2	6	0	0	0	1	1	0	12
86	1.355	250	76	40	0	1	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7
87	99	2	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
88	326	17	4	220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
89	894	302	71	0	0	1	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6
90	3.364	444	57	268	0	6	9	0	5	0	0	0	0	0	0	0	7
91	2.661	289	85	5	0	4	33	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7
92	41	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
93	189	39	22	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
94	1.148	80	10	1	0	0	3	0	0	3	10	0	0	0	0	0	7
95	353	34	17	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5
96	879	71	11	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
97	3.999	623	81	37	75	9	26	0	1	0	0	4	0	0	0	2	10

Tabelle 67: Anzahl der identifizierten Legionellen Kolonien je Postleitzahlregion

23 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Strukturformeln von A) α -Cyano-4-hydroxymizmsäure, B) Sinapinsäure und C) 2,5-Dihydroxybenzoesäure, die bei der MALDI-TOF Analyse häufig al Matrix eingesetzt werden.	8
Abbildung 2 Kontamination nach DVGW W551 in Bezug auf die max. erreichbare Temperatur. In der Abbildung wird die Kontamination der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.	21
Abbildung 3 Technischer Maßnahmewert in Bezug zur max. erreichbaren Temperatur. In der Abbildung wird die Einhaltung bzw. Überschreitung des technischen Maßnahmewertes der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.	22
Abbildung 4 Technischer Maßnahmewert in Bezug zur Temperatur bei der Probenahme. In der Abbildung wird die Kontamination der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.	23
Abbildung 5 Technischer Maßnahmewert in Bezug zur Temperatur bei der Probenahme. In der Abbildung wird die Einhaltung bzw. Überschreitung des technischen Maßnahmewertes der einzelnen Temperaturbereiche dargestellt.	24
Abbildung 6 Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Die nach Temperaturbereichen gruppierten Probenzahlen je Kontamination wurden hier dargestellt. Proben ohne Kontamination wurden nicht dargestellt.	27
Abbildung 7 Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Die nach Temperaturbereichen gruppierten Probenzahlen wurden hier dargestellt.	28
Abbildung 8 Prozentuale Verteilung der Legionellen in Hausinstallationen	31
Abbildung 9 Prozentuale Verteilung der NON-L. pneumophila und NON-L. anisa Legionellen in Hausinstallationen	31
Abbildung 10 Anzahl der Kolonien der gefundenen Begleitflora	32
Abbildung 11 Postleitzahlregionen, welche die Anforderungen erfüllen und zur näheren Betrachtung herangezogen wurden.	34
Abbildung 12 Regionen mit A) <i>L. pneumophila</i> und B) <i>L. anisa</i>	35
Abbildung 13 Verbreitung von A) <i>L. tauriensis</i> B) <i>L. rubilucens</i>	35
Abbildung 14 Verbreitung von A) <i>L. gormonii</i> B) <i>L. londoniensis</i>	35
Abbildung 15 Verbreitung von A) <i>L. erythra</i> und B) <i>L. feeli</i>	36

Abbildung 16 Verbreitung von A) <i>L. bozmani</i> in rot und <i>L. pariensis</i> in grün B) <i>L. dumoffi</i>	36
Abbildung 17 Verbreitung von <i>L. santicrucis</i> in orange, <i>L. jamestownii</i> in lila, <i>L. geestina</i> in grün	36
Abbildung 18 Darstellung der Probenzahl (N) in Orange für die Postleitzahlregionen gegen den Shannon-Wiener-Index.	39
Abbildung 19 Legionellen-Belastungen in verschiedenen Ortschaften	40
Abbildung 20 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Augsburg	42
Abbildung 21 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bamberg	44
Abbildung 22 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bayreuth	45
Abbildung 23 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Bamberg	47
Abbildung 24 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Freising	48
Abbildung 25 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Fürth	50
Abbildung 26 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Ingolstadt	51
Abbildung 27 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Landshut	53
Abbildung 28 Postleitzahlgebiete innerhalb Münchens	57
Abbildung 29 Postleitzahlgebiete in den <i>L. anisa</i> (grün) nachgewiesen wurde	58
Abbildung 30 Postleitzahlgebiete in den <i>L. tauriensis</i> (grün) nachgewiesen wurde	58
Abbildung 31 Postleitzahlgebiete in den <i>L. bozemanai</i> (braun), <i>L. erythra</i> (pink), <i>L. gormanii</i> (dunkelgelb), <i>L. londiniensis</i> (orange), <i>L. parisiensis</i> (grün), <i>L. quateirensis</i> (lila), <i>L. rubrilucens</i> (blau) und <i>L. santicrucis</i> (zitronengelb) nachgewiesen wurden	59
Abbildung 32 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Neu-Ulm	60
Abbildung 33 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Nürnberg	63

Abbildung 34 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Passau	64
Abbildung 35 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Regensburg	66
Abbildung 36 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Rosenheim	67
Abbildung 37 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Schweinfurt	69
Abbildung 38 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Germering	72
Abbildung 39 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Gauting	72
Abbildung 40 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Fürstenfeldbruck	73
Abbildung 41 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Starnberg	73
Abbildung 42 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Weilheim	74
Abbildung 43 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Garmisch-Partenkirchen	74
Abbildung 44 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Dachau	75
Abbildung 45 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Erding	75
Abbildung 46 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Landsberg am Lech	76
Abbildung 47 Graphische Darstellung der Legionellenverteilung in Straubing	76
Abbildung 48 Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 82 in Bezug auf die jeweiligen Orte.	78
Abbildung 49 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 83 gegen die Legionellenbefunde aus Rosenheim	79
Abbildung 50 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 84 gegen die Legionellenbefunde aus Landshut	80
Abbildung 51 Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 85 in Bezug auf die jeweiligen Orte.	81

Abbildung 52 Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 86 in Bezug auf die jeweiligen Orte.	82
Abbildung 53 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 89 gegen die Legionellenbefunde aus Neu-Ulm	83
Abbildung 54 Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 90 in Bezug auf die jeweiligen Orte.	84
Abbildung 55 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 91 gegen die Legionellenbefunde aus Erlangen	85
Abbildung 56 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 93 gegen die Legionellenbefunde aus Regensburg	86
Abbildung 57 Darstellung der Legionellenverteilung innerhalb der Postleitzahlregion 94 in Bezug auf die jeweiligen Orte.	87
Abbildung 58 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 95 gegen die Legionellenbefunde aus Bayreuth	88
Abbildung 59 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 96 gegen die Legionellenbefunde aus Bamberg	89
Abbildung 60 Darstellung der Legionellenverteilung der Postleitzahlregion 97 gegen die Legionellenbefunde aus Schweinfurt	90
Abbildung 61 Relativer Anteil der L. spezies im jeweiligen Temperaturintervall	92
Abbildung 62 Wasserversorgung Nürnberg (https://www.n-ergie.de/privatkunden/produkte/wasser/herkunft.html)	107

24 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht über verschiedene L. spp. und beschriebenen Infektionen beim Menschen. (Übernommen von WHO (1990))	6
Tabelle 2 Bewertung der Legionellen-Bestätigungsreaktion	13
Tabelle 3 Anzahl der Kolonien aus Wasserproben, die als verdächtige L. spp. untersucht und identifiziert wurden. ISO 11731-2; ISO 17994:2004	16
Tabelle 4 Einteilung der Kontaminationen gemäß DVGW-Arbeitsblatt W 551	18
Tabelle 5 Eingruppierung gemäß DVGW Arbeitsblatt W551 – In der Tabelle wird eine Übersicht über die Anzahl der Proben sowie deren prozentualer Anteil in der jeweiligen Kategorie gegeben.	19
Tabelle 6 Darstellung der Probenzahl und deren prozentuale Verteilung hinsichtlich des technischen Maßnahmewertes	19
Tabelle 7 Kontaminationen bei maximal erreichbarer Temperatur. Die Proben wurden in Temperaturbereiche unterteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil im jeweiligen Temperaturbereich aufgelistet.	20
Tabelle 8 Technischer Maßnahmewert bei max. erreichbarer Temperatur. Die Proben wurden in Hinblick auf die max. erreichbare Temperatur in Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil für den jeweiligen Temperaturbereich dargestellt.	21
Tabelle 9 Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Proben wurden auf Grund der Temperatur bei der Probenahme in die Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil im jeweiligen Temperaturbereich aufgelistet.	23
Tabelle 10 Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Proben wurden in Hinblick auf die Temperatur bei der Probenahme in Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl sowie der prozentuale Anteil für den Jeweiligen Temperaturbereich dargestellt.	24
Tabelle 11 Kontamination nach DVGW W 551 in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Bei den Proben wurden die Differenz zwischen der Temperatur bei der Probenahme und der max. erreichbaren Temperatur gebildet. Die Differenz wurde in die entsprechenden Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl der Proben und deren prozentualer Anteil je Kontamination angegeben.	26
Tabelle 12 Technischer Maßnahmewert in Bezug auf die Temperaturdifferenz. Bei den Proben wurden die Differenz zwischen der Temperatur bei der Probenahme und der max. erreichbaren Temperatur gebildet. Die Differenz wurde in die entsprechenden Temperaturbereiche eingeteilt und die Anzahl der Proben und deren prozentualer Anteil je Kontamination angegeben.	27

Tabelle 13 Ergebnisse der Identifizierung	30
Tabelle 14 Anzahl der verschiedenen L.e je Hausinstallation	33
Tabelle 15 Verteilung der Legionellen in verschiedenen Postleitzahlregionen	37
Tabelle 16 Übersicht Shannon-Wiener-Index für die jeweiligen Postleitzahlregionen N = Anzahl der identifizierten Kolonien, S = Anzahl der verschiedenen Legionellen-Arten, Hs = Shannon-Wiener-Index und E = Gleichmäßigkeit	38
Tabelle 17 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Augsburg	41
Tabelle 18 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Augsburg.	42
Tabelle 19 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Bamberg	43
Tabelle 20 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Bamberg.	43
Tabelle 21 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Bayreuth	44
Tabelle 22 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Bayreuth.	45
Tabelle 23 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Erlangen	46
Tabelle 24 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Erlangen.	46
Tabelle 25 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Freising	47
Tabelle 26 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Freising.	48
Tabelle 27 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Fürth	49
Tabelle 28 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Fürth.	49
Tabelle 29 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Ingolstadt	50

Tabelle 30 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Ingolstadt.	51
Tabelle 31 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Landshut	52
Tabelle 32 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Landshut.	52
Tabelle 33 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in München	55
Tabelle 34 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in München.	56
Tabelle 35 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Neu-Ulm	59
Tabelle 36 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Neu-Ulm.	60
Tabelle 37 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Nürnberg	61
Tabelle 38 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Nürnberg.	62
Tabelle 39 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Passau	63
Tabelle 40 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Passau.	64
Tabelle 41 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Regensburg	65
Tabelle 42 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Regensburg.	65
Tabelle 43 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Rosenheim	66
Tabelle 44 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Rosenheim.	67
Tabelle 45 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in Schweinfurt	68
Tabelle 46 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Postleitzahlbereich in Schweinfurt.	68

Tabelle 47 Übersicht über die ermittelten Kontaminationen je Postleitzahl in verschiedenen Städten	71
Tabelle 48 Verteilung der verschiedenen L. spp. je Ortschaft.	71
Tabelle 49 Anteil der gefundenen L. spp. je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 82	77
Tabelle 50 Anteil der gefundenen L. spp. in Rosenheim in Bezug auf die Postleitzahlregion 83	78
Tabelle 51 Anteil der gefundenen L. spp. in Landshutin Bezug auf die Postleitzahlregion 84	79
Tabelle 52 Anteil der gefundenen L. spp. je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 85	80
Tabelle 53 Anteil der gefundenen L. spp. je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 86	81
Tabelle 54 Anteil der gefundenen L. spp. in Neu-Ulm in Bezug auf die Postleitzahlregion 89	82
Tabelle 55 Anteil der gefundenen L. spp. je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 90	83
Tabelle 56 Anteil der gefundenen L. spp. in Erlangen in Bezug auf die Postleitzahlregion 91	84
Tabelle 57 Anteil der gefundenen L. spp. in Regensburg in Bezug auf die Postleitzahlregion 93	85
Tabelle 58 Anteil der gefundenen L. spp. je Ort in Bezug auf die Postleitzahlregion 94	86
Tabelle 59 Anteil der gefundenen L. spp. in Bayreuth in Bezug auf die Postleitzahlregion 95	87
Tabelle 60 Anteil der gefundenen L. spp. in Bamberg in Bezug auf die Postleitzahlregion 96	88
Tabelle 61 Anteil der gefundenen L. spp. in Schweinsfurt in Bezug auf die Postleitzahlregion 97	89
Tabelle 62 Relativer Anteil einer L. species im Temperaturintervall bezogen auf die Temperatur bei der Probenahme. Die Auswertung beinhaltet den 100 mL und 1 mL Ansatz.	91
Tabelle 63 Vergleich der L. spp. in München mit den Spezies aus den Wassereinzugsgebieten.	105

Tabelle 64 Übersicht über das Alter der Gebäude sowie die Heizungsart (Daten aus Zensus 9. Mai 2011 zur Verfügung gestellt vom Statistischen Landesamt Bayern)	106
Tabelle 65 Anzahl der Zapfstellen je Temperaturbereich bei der Probenahme bzw. in Bezug auf die maximal erreichbare Temperatur	112
Tabelle 66 Anzahl der identifizierten Legionellen Kolonien je Postleitzahlregion	113

25 Abkürzungen

Abkürzung

BCYE	Buffered Charcoal Yeast Extract Agar
°C	Grad Celsius
c	Konzentration
CASO	Casein-Soja-Pepton-Agar
DVGW	Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.
g	Gramm
GVPC	Glycin-Polymyxin B-Vancomycin-Cycloheximid-Legionellen-Agar
h	Stunde
HCCA	α -Cyano-4-hydroxymizsäure
HCl	Salzsäure
IMHR	Institut für Mikrobiologie und Hygiene Regensburg
K	Kelvin
KbE	Koloniebildende Einheiten
KCl	Kaliumchlorid
L	Liter
<i>L. sp.</i>	<i>Legionella species</i>
<i>L. spp.</i>	<i>Legionella species pluralis</i>
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mol	Mol
M	Molar
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pH	pH-Wert
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
t	Zeit
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
UBA	Umweltbundesamt

26 Literaturverzeichnis

Adeleke AA *et al.* (2001). *Legionella drozanskii* sp. nov., *Legionella rowbothamii* sp. nov. and *Legionella fallonii* sp. nov.: three unusual new *Legionella* species. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 51:1151–1160.

Anand CM *et al.* (1983). Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*). *Journal of Hygiene (London)*, 91:167–178.

Anderson, E., Lindsay, D.S.J., Pollock, K.G.J., Cameron, R.L., 2016. Comparison of *Legionella longbeachae* and *Legionella pneumophila* cases in Scotland; implications for diagnosis, treatment and public health response. *Journal of Medical Microbiology* 65, 142–146. doi:10.1099/jmm.0.000215

Anon. (2004a) DIN EN ISO 17994 2004, Wasserbeschaffenheit - Kriterien für die Feststellung der Gleichwertigkeit von mikrobiologischen Verfahren, ISO 17994-2004 Available from: *Beuth*

Anon. (2004b) DVGW W 551 (April 2004) Trinkwassererwärmungs- und Trinkwasserleitungsanlagen - Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums - Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen. *DVGW*

Anon. (2007) DVGW W 270 (11-2007) Vermehrung von Mikroorganismen auf Werkstoffen für den Trinkwasserbereich - Prüfung und Bewertung. *DVGW*

Anon. (2008) DIN EN ISO 11731-2. (June 2008). Water quality - Detection and enumeration of *Legionella* - Part 2: Direct membrane filtration method for water s with low bacterial counts. *Beuth*.

Anon. (2011) Zensus 9. Mai 2011, Statistische Ämter des Bundes und der Länder, 2014

Anon. (2012) Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001) *Bekanntmachung vom 2. August 2013. BGBl. I S. 2977ff.*

Anon. (2013) Trinkwasserverordnung – TrinkwV, 2001, 'Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001)' *Bekanntmachung vom 2. August 2013, BGBl. I S. 2977ff.*

Anon. (2015) Becton Dickinson Price list 2015 Germany/Austria, Available from: *Becton Dickinson*

Ayyadurai, S., Flaudrops, C., Raoult, D. and Drancourt, M. (2010) Rapid identification and typing of *Yersinia pestis* and other *Yersinia* species by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *BMC Microbiology* 10: 285.

- Baker J, Farrell ID, Hutchinson JG (1981). Factors affecting growth of *Legionella pneumophila* in liquid media. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 44:1054–1056.
- Barbuddhe, S.B., Maier, T., Schwarz, G., Kostrzewa, M., Hof, H., Domann, E., Chakraborty, T. and Hain, T. (2008) Rapid Identification and Typing of *Listeria* Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 5402–5407.
- Bartie, C., Venter, S.N., Nel, L.H., 2003. Identification methods for *Legionella* from environmental samples. *Water Res.* 37, 1362–1370. doi:10.1016/S0043-1354(02)00220-8
- Bazovska S, Spalekova M (1994). Legionellosis [in Slovakian]. *Bratislavské Lekárske Listy*, 95(11):515–517.
- Benson RF *et al.* (1989). *Legionella quinlivanii* sp. nov. isolated from water. *Current Microbiology*, 18:195–197.
- Benson RF *et al.* (1990). *Legionella sainthelensi* serogroup 2 isolated from patients with pneumonia. *Respiratory Microbiology*, 141(4):453–463.
- Benson RF *et al.* (1996a). *Legionella adelaidensis*, a new species isolated from cooling tower water. *Journal of Clinical Microbiology*, 29:1004–1006.
- Benson RF *et al.* (1996b). *Legionella waltersii* sp. nov. and an unnamed *Legionella* genomospecies isolated from water in Australia. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46:631–634.
- Benson RF, Fields BS (1998). Classification of the genus *Legionella*. *Seminars in Respiratory Infections*, 13:90–99.
- Bercovier H *et al.* (1986). Isolation of legionellae from oxidation ponds and fishponds in Israel and description of *Legionella israelensis* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36:368–371.
- Bhopal RS. (1993) Geographical variation of Legionnaires' disease: a critique and guide to future research. *Int J Epidemiol.* 1993 Dec;22(6):1127-36. Review.PMID: 8144296
- Binghuai, L., Yanli, S., Shuchen, Z., Fengxia, Z., Dong, L., Yanchao, C., 2014. Use of MALDITOF mass spectrometry for rapid identification of group B *Streptococcus* on chromID Strepto B agar. *Int. J. Infect. Dis.* 27, 44–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.06.023>.
- Birtles RJ *et al.* (1991). Second serogroup of *Legionella quinlivanii* isolated from two unrelated sources in the United Kingdom. *Journal of Applied Bacteriology*, 71:402–406.

- Birtles RJ *et al.* (1996). Phylogenetic diversity of intra-amoebal legionellae as revealed by 16S rRNA gene sequence comparison. *Microbiology*, 142(12):3525–3530.
- Bittar, F., Cassagne, C., Bosdure, E., Stremler, N., Dubus, J.-C., Sarles, J., Reynaud-Gaubert, M., Raoult, D., Rolain, J.-M., 2010. Outbreak of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* infection in cystic fibrosis patients, France. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1231–1236.
[http://dx.doi.org/ 10.3201/eid1608.100193](http://dx.doi.org/10.3201/eid1608.100193).
- Bizzini, A., Greub, G., 2010. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clin. Microbiol. Infect.* 16, 1614–1619.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03311.x>.
- Boldur I *et al.* (1985). Legionnaires' disease: new etiologic agents. *Israel Journal of Medical Sciences*, 21(7):617–620.
- Bornstein N *et al.* (1987). Bacteriological and serological diagnosis of community-acquired acute pneumonia, specially Legionnaires' disease. Multicentric prospective study of 274 hospitalized patients. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene A*, 264(1–2):93–101.
- Bornstein N *et al.* (1989a). Pleural infection caused by *Legionella anisa*. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(9):2100–2101.
- Bornstein N *et al.* (1989b). *Legionella gratiana* sp. nov. isolated from French spa water. *Research in Microbiology*, 140:541–552.
- Branquinho, R., Sousa, C., Lopes, J., Pintado, M.E., Peixe, L.V., Osório, H., 2014. Differentiation of *Bacillus pumilus* and *Bacillus safensis* using MALDI-TOF-MS. *PLoS One* 9, e110127.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0110127>.
- Brenner DJ *et al.* (1985). Ten new species of *Legionella*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35:50–59.
- Brenner DJ *et al.* (1988). *Legionella pneumophila* serogroup Lansing 3 isolated from a patient with fatal pneumonia, and descriptions of *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* subsp., nov., *L. pneumophila* subsp. *fraseri* subsp. nov., and *L. pneumophila* subsp. *pascullei* subsp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(9):1695–1703.
- Burkhardt, F., 1992, *Mikrobiologische Diagnostik*, Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 3-13-743601-X.
- Carbonnelle, E., Beretti, J.-L., Cottyn, S., Quesne, G., Berche, P., Nassif, X., Ferroni, A., 2007. Rapid identification of staphylococci isolated in clinical microbiology laboratories by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 45, 2156–2161.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02405-06>.

- Cargill KL *et al.* (1992). Effects of culture conditions and biofilm formation on the iodine susceptibility of *Legionella pneumophila*. *Canadian Journal of Microbiology*, 38:423–429.
- Chereshsky AY, Bettelheim KA (1986). Serological studies of legionellosis in New Zealand. *Israel Journal of Medical Science*, 22(10):737–739.
- Cherry WB *et al.* (1982). *Legionella jordanis*: a new species of *Legionella* isolated from water and sewage. *Journal of Clinical Microbiology*, 15:290–297.
- Croxatto, A., Prod'homme, G., Greub, G., 2012. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* 36, 380–407. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>.
- Darai, G (Herausgeber:) Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen: Erreger, Symptome, Diagnose, Therapie und Prophylaxe, 2. Auflage, Gebundene Ausgabe, Springer 2003
- Dennis PJ *et al.* (1993). Five new *Legionella* species isolated from water. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43:329–337.
- Donlan RM (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9):881–890.
- Dieckmann, R., Helmuth, R., Erhard, M., Malorny, B., 2008. Rapid classification and identification of salmonellae at the species and subspecies levels by whole-cell matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 7767–7778. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01402-08>.
- Dilger, T., Melzl, H., Gessner, A., 2016a. Legionella Contamination in Warm Water Systems in Germany – Influence of Maximal Temperature and Temperature during Sampling [German: Legionellen-Kontaminationen in Warmwassersystemen in Deutschland – Einfluss der maximal erreichbaren Temperatur und der Temperatur bei der Probenahme], *gwf – Wasser | Abwasser*, vol. 157, no. 03, pp. 262-271.
- Dilger, T., Melzl, H., Gessner, A., 2016b. Rapid and reliable identification of waterborne *Legionella* species by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods* 127, 154–159. doi:10.1016/j.mimet.2016.05.028
- Edelstein PH (1982a). *Legionella wadsworthii* species nova: a cause of human pneumonia. *Annals of Internal Medicine*, 97:809–813.
- Edelstein PH, Edelstein MA (1989). Evaluation of the Merifluor-*Legionella* immunofluorescent reagent for identifying and detecting 21 *Legionella* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 27:2455–2458.

- Edelstein PH, Pryor EP (1985). A new biotype of *Legionella dumoffii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(4):641–642.
- Eitrem R, Forsgren A, Nilsson C (1987). Pneumonia and acute pancreatitis most probably caused by a *Legionella longbeachae* infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 19(3):381–382.
- Fang GD, Yu VL, Vickers RM (1989). Disease due to the Legionellaceae (other than *Legionella pneumophila*). Historical, microbiological, clinical, and epidemiological review [published erratum appears in *Medicine Baltimore*, 1989, 68(4):209], *Medicine Baltimore*, 68(2):116–132.
- Fenstersheib MD *et al.* (1990). Outbreak of Pontiac fever due to *Legionella anisa*. *Lancet*, 336(8706):35–37.
- Fields BS *et al.* (1984). Proliferation of *Legionella pneumophila* as an intracellular parasite of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 47:467–471.
- Fields BS *et al.* (1986). Comparison of guinea pig and protozoan models for determining virulence of *Legionella* species. *Infection and Immunity*, 53:553–559.
- Fields BS *et al.* (2001). Pontiac fever due to *Legionella micdadei* from a whirlpool spa: possible role of bacterial endotoxin. *Journal of Infectious Diseases*, 184(10):1289–1292.
- Fields BS, Benson RF, Besser RE (2002). *Legionella* and Legionnaire's disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3):506–526.
- Goossens H (2001). Legionellosis: a new disease of Western hemisphere? *Verhandelingen-Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België*, 63:359–377.
- Griffith ME *et al.* (1988). First isolation of *Legionella gormanii* from human disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(2):380–381.
- Harrison TG *et al.* (1988). Serological diversity within the species *Legionella spiritensis*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65:425–431.
- Hebert GA *et al.* (1980). *Legionella micdadei* species nova: classification of a third species of *Legionella* associated with human pneumonia. *Current Microbiology*, 3:255–257.
- Herwaldt LA *et al.* (1984). A new *Legionella* species, *Legionella feeleei* species nova, causes Pontiac fever in an automobile plant. *Annals of Internal Medicine*, 100:333–338.
- ISO 11731:1998. ISO Standard: Water quality — detection and enumeration of *Legionella*. Geneva, *International Organization for Standardization*.

Jernigan DB *et al.* (1994). Pulmonary infection due to *Legionella cincinnatiensis* in renal transplant recipients: two cases and implications for laboratory diagnosis. *Clinical Infectious Diseases*, 18(3):385–389.

Joseph C (2002a). Surveillance of Legionnaires disease in Europe. In: Marre R *et al.*, eds. *Legionella*, Washington DC, ASM Press, 311–320.
Kramer MH, Ford TE (1994). Legionellosis: ecological factors of an environmentally “new” disease. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 195:470–482.

Konrad, R., Berger, A., Huber, I., Boschert, V., Hörmansdorfer, S., Busch, U., Hogardt, M., Schubert, S., Sing, A., 2010. . Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry as a tool for rapid diagnosis of potentially toxigenic *Corynebacterium* species in the laboratory management of diphtheria-associated bacteria. *Euro Surveill* 15

La Scola B *et al.* (2004). *Legionella drancourtii* sp. nov., a strictly intracellular amoebal pathogen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3):699–703.

LeChevallier MW *et al.* (1988). Inactivation of biofilm bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 54:2492–2499.

Lee TC *et al.* (1993). Growth of 28 *Legionella* species on selective culture media: a comparative study. *Journal of Clinical Microbiology*, 31:2764–2768.
Lo Presti F *et al.* (1997). The first clinical isolate of *Legionella parisiensis*, from a liver transplant patient with pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(7):1706–1709.

Lo Presti F *et al.* (1999). *Legionella taurinensis* sp. nov., a new species antigenically similar to *Legionella spiritensis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49(2):397–403.

Lo Presti F *et al.* (2000). Isolation of *Legionella oakridgensis* from two patients with pleural effusion living in the same geographical area. *J Clin Microbiol.* 2000 Aug;38(8):3128-30. PMID: 10921997

Lo Presti F *et al.* (2001). *Legionella gresilensis* sp. nov. and *Legionella beliardensis* sp. nov., isolated from water in France. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 51:1949–1957.

Lode H *et al.* (1987). Significance of non-pneumophila *Legionella* species in adult community-acquired and nosocomial pneumonias. *Klinische Wochenschrift*, 65(10):463–468.

Loret JF *et al.* (2003). Comparison of treatment efficiency for *Legionella* control in domestic water systems. Philadelphia, AWWA Water Quality Technology Conference Proceedings.

Lotz, A., Ferroni, A., Beretti, J.-L., Dauphin, B., Carbonnelle, E., Guet-Revillet, H., Veziris, N., Heym, B., Jarlier, V., Gaillard, J.-L., Pierre-Audigier, C., Frapy, E., Berche, P., Nassif, X., Bille, E., 2010. Rapid identification of mycobacterial whole cells in solid and liquid culture media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 48, 4481–4486. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01397-10>

Martinelli F *et al.* (2000). A comparison of *Legionella pneumophila* occurrence in hot water tanks and instantaneous devices in domestic, nosocomial, and community environments. *Current Microbiology*, 41:374–376.

McKinney RM *et al.* (1981). *Legionella longbeachae* species nova, another etiologic agent of human pneumonia. *Annals of Internal Medicine*, 94:739–743.

Merrell WH *et al.* (1991). Isolation of *Legionella maceachernii* from an immunocompromised patient with severe underlying lung disease. *Medical Journal of Australia*, 155(6):415–417.

Morton LHG *et al.* (1998). Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 41:247–259.

Moura, H., Ospina, M., Woolfitt, A.R., Barr, J.R., Visvesvara, G.S., 2003. Analysis of four human microsporidian isolates by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Eukaryot. Microbiol.* 50, 156–163.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00110.x>.

Nagy, E., Maier, T., Urban, E., Terhes, G., Kostrzewa, M., 2009. Species identification of clinical isolates of *Bacteroides* by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of flight mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 796–802. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02788.x>.

Orrison LH *et al.* (1983). *Legionella oakridgensis*: unusual new species isolated from cooling tower water. *Applied and Environmental Microbiology*, 45:536–545.

Park MY *et al.* (2003). *Legionella busanensis* sp. nov., isolated from cooling tower water in Korea. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 53:77–80.

Patel, R., 2013. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clin. Infect. Dis.* 57, 564–572.
<http://dx.doi.org/10.1093/cid/cit247>.

Patel, R., 2015. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin. Chem.* 61, 100–111. <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2014.221770>.

Rezzonico, F., Vogel, G., Duffy, B., Tonolla, M., 2010. Application of whole-cell matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification and clustering analysis of *Pantoea* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 4497–4509.

<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03112-09>.

Rogers J *et al.* (1994). Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*, 60:1585–1592.

Rowbotham TJ (1980). Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *Journal of Clinical Pathology*, 33:1179–1183.

Rowbotham TJ (1984). Legionellae and Amoebae. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W, eds. *Legionella: proceedings of the 2nd international symposium*, American Society for Microbiology, Washington DC, ASM Press, 325–327. Rowbotham TJ (1986). Current views on the relationships between amoebae, legionellae and man. *Israel Journal of Medical Science*, 22:678–689.

Saunders NA, Doshi N, Harrison TG (1992). A second serogroup of *Legionella erythra* serologically indistinguishable from *Legionella rubrilucens*. *Journal of Applied Bacteriology*, 72:262–265.

Seng, P., Rolain, J.-M., Fournier, P.E., La Scola, B., Drancourt, M., Raoult, D., 2010. MALDITOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future Microbiol* 5, 1733–1754. <http://dx.doi.org/10.2217/fmb.10.127>

Sheehan KB, Henson JM, Ferris MJ (2005). *Legionella* species diversity in an acidic biofilm community in Yellowstone National Park. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:507–511.

Skaliy P, McEachern H (1979). Survival of the Legionnaires' disease bacterium in water. *Annals of Internal Medicine*, 90:662.

Sonesson A *et al.* (1994). Composition of 2,3-dihydroxy fatty acid-containing lipopolysaccharides from *Legionella israelensis*, *Legionella maceachernii* and *Legionella micdadei*. *Microbiology*, 140(6):1261–1271.

Spieker S *et al.* (1998). Acute disseminated encephalomyelitis following Pontiac fever. *European Neurology*, 40(3):169–172.

Stephan, R., Ziegler, D., Pfluger, V., Vogel, G., Lehner, A., 2010. Rapid genus- and species specific identification of *Cronobacter* spp. by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 48, 2846–2851. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00156-10>.

Storey MV, Ashbolt J, Stenstrom TA (2004a). Biofilms, thermophilic amoebae and *Legionella pneumophila* — a quantitative risk assessment for distributed water. *Water Science and Technology*, 50:77–82.

- Tang PW, Toma S, MacMillan LG (1985). *Legionella oakridgensis*: laboratory diagnosis of a human infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(3):462–463.
- Thacker WL *et al.* (1988a). *Legionella cincinnatiensis* sp. nov. isolated from a patient with pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(3):418–420.
- Thacker WL *et al.* (1988b). *Legionella jordanis* isolated from a patient with fatal pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(7):1400–1401.
- Thacker WL *et al.* (1989). *Legionella tucsonensis* sp. nov. isolated from a renal transplant recipient. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(8):1831–1834.
- Thacker WL *et al.* (1990). Characterization of a *Legionella anisa* strain isolated from a patient with pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(1):122–123.
- Thacker WL *et al.* (1991). *Legionella fairfieldensis* sp. nov. isolated from cooling tower waters in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*, 29:475–478.
- Thacker WL *et al.* (1992). *Legionella lansingensis* sp. nov. isolated from a patient with pneumonia and underlying chronic lymphocytic leukemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9):2398–2401.
- Vaccaro, L., Izquierdo, F., Magnet, A., Hurtado, C., Salinas, M.A., Gomes, T.S., Angulo, S., Salso, S., Pelaez, J., Tejeda, M.I., Alhambra, A., Gómez, C., Enríquez, A., Estirado, E., Fenoy, S., Aguila, C. del, 2016. First Case of Legionnaire's Disease Caused by *Legionella anisa* in Spain and the Limitations on the Diagnosis of *Legionella non-pneumophila* Infections. *PLOS ONE* 11, e0159726. doi:10.1371/journal.pone.0159726
- Verma UK *et al.* (1992). 1992 *Legionella shakespearei* sp. nov., isolated from cooling tower water. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42:404–407.
- Verroken, A., Janssens, M., Berhin, C., Bogaerts, P., Huang, T.-D., Wauters, G., Glupczynski, Y., 2010. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of *Nocardia* species. *J. Clin. Microbiol.* 48, 4015–4021.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01234-10>.
- Wadowsky RM *et al.* (1991). Multiplication of *Legionella* spp. in tap water containing *Hartmannella vermiformis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57:1950–1955.
- WHO (1990). Epidemiology, prevention and control of legionellosis.
- Williamson, Y.M., Moura, H., Woolfitt, A.R., Pirkle, J.L., Barr, J.R., Carvalho, M.D.G., Ades, E.P., Carlone, G.M., Sampson, J.S., 2008. Differentiation of *Streptococcus pneumoniae* conjunctivitis outbreak isolates by matrix-assisted

laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5891–5897. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00791-08>.

Wilkinson HW *et al.* (1985). Second serogroup of *Legionella hackeliae* isolated from a patient with pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(4):488–489.

Wilkinson HW *et al.* (1987). *Legionella birminghamensis* sp. nov. isolated from a cardiac transplant recipient. *Journal of Clinical Microbiology*, 25(11):2120–2122.

Wilkinson HW *et al.* (1988). *Legionella moravica* sp. nov. and *Legionella brunensis* sp. nov. isolated from cooling-tower water. *Annals of the Institut Pasteur Microbiology*, 139:393–402.

Wilkinson IJ *et al.* (1990). Problems associated with identification of *Legionella* species from the environment and isolation of six possible new species. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:796–802.

Williams JF, Molinari JA, Andrews N (1996). Microbial contamination of dental unit waterlines: origins and characteristics. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 17:538–540.

Yee RB, Wadowsky RM (1982). Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. *Applied and Environmental Microbiology*, 43:1330–1334.

Yu VL (2000). *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease). In: *Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases*, Philadelphia, Churchill Livingstone, 2424–2435.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den folgenden Personen recht herzlich bedanken:

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. André Gessner für die gute Betreuung und die wissenschaftliche Unterstützung während der Dissertation.

Bei Herrn Dr. Paul Wimmer, der mir als Geschäftsführer der AGROLAB GROUP die Erlaubnis gab, diese Arbeit mit den Routineproben zu erstellen und die Laboreinrichtungen der AGROLAB GROUP zu nutzen.

Bei Herrn Dipl. Ing. (FH) Holger Melzl, der mir durch seine kritischen Fragen und konstruktiven Vorschläge verschiedene Denkanstöße gab und die Manuskripte für die Publikationen bereichert hat.

Bei den Mentoren Frau Prof. Dr. Christiane Höller und Herrn Prof. Dr. Jonathan Jantsch, für die Bereitschaft und den zeitlichen Aufwand, die Mentorenschaft zu übernehmen und die hilfreichen Fragen und Anstöße.

Bei meinem Mikrobiologie-Team in der Agrolab-Labor GmbH, dass tatkräftig Messergebnisse produziert hat.

Bei Herrn Dr. Klaus Pelz, von dem ich das mikrobiologische Handwerkszeug und die Grundlagen des wissenschaftlichen Arbeitens gelernt habe.

Bei Herrn Prof. Dr. Siegfried Weber, bei dem ich das Erstellen und Formulieren von wissenschaftlichen Anleitungen gelernt und geübt habe.

Bei meiner Familie und meinen Freunden für die moralische Unterstützung, während arbeitsreicher Phasen.

Vielen Dank!

Thorsten Dilger

Lebenslauf

Name	Thorsten Dilger		
Adresse	Wittelsbacherstr. 12 82110 Germering		
Geburtsdatum	06.01.1978		
Geburtsort	Freiburg im Breisgau		
Staatsangehörigkeit	Deutsch		
Ausbildung	1984-1989	<i>Grundschule Kirchzarten</i>	
	1989-1995	<i>Realschule Kirchzarten</i>	
		Mittlere Reife (Durchschnitt 1,6)	
	1995-1997	<i>Berufskolleg für Chemisch-technische Assistenten Freiburg</i>	
		Beruf: Chemisch-technischer Assistent Fachhochschulreife (Durchschnitt 1,9)	
		<i>Studium Biologische Chemie an der FH-Mannheim</i>	
		Vordiplom in Chemietechnik	
	2001-2005	Praktisches Studiensemester in Australien an der Flinders University Adalaide mit der Thematik „On the interactions of marine diatoms with nanoscale particles“	
		Diplomarbeit bei Firma Thor in Speyer mit dem Thema „Mikroverkapselung von Bioziden mittels Polyelektrolyten“	
		Diplom-Ingenieur (FH) Biologische Chemie	
Berufliche Erfahrung	Seit 2017	<i>Universität Regensburg</i>	- Promotionsverfahren
	Seit 2006	<i>Agrolab GmbH</i>	Leitung Mikrobiologie verantwortlicher

Leiter (§50 IfSG) und Stellvertreter
Gesamtleitung des Laboratoriums Eching:

- Personalverantwortung
- Methodenumsetzungen
- Berücksichtigung von Kundenwünschen
- Kostenerhebungen/ Preiskalkulationen
- Materialverantwortung
- Schulung der Mitarbeiter
- Überwachung der Qualitätskontrolle
- Kundenberatung
- Validierung/ Akkreditierung neuer Methoden
- Kompletter Aufbau der Lebensmittelmikrobiologie inklusive Akkreditierung durch das DAKKS
- Begutachtung, Bewertung, Befundung und Beratung in den Bereichen Trinkwasser, Mineral- und Tafelwasser, Lebensmittel Gentechnisch-Veränderte Organismen und Kosmetik
- Kompletter Aufbau der Molekularbiologie inklusive Akkreditierung durch das DAKKS
- Aufbau der Virologie

*B Braun - Aesculap AG,
Abteilung Entwicklung Closure Technologies
Trainee*

2005-
2006

Entwicklung von antimikrobiellen Beschichtungen auf chirurgische Nahtmaterialien unter Berücksichtigung der toxikologischen, produktionstechnischen und zulassungsrelevanter Aspekte

*Institut für Anorganische Chemie
Fachhochschule Mannheim*

2001-
2005

- Tutor „Anorganische-chemisches Praktikum Grundlagen“ und „Fortgeschrittene“ (deutsch- und englischsprachige Studiengänge)
- Tutor „General Chemistry“
- Mitarbeit beim Erstellen von Praktikums- und Vorlesungsskripten

- Mitarbeit beim Strukturieren und Einführen von neuen Vorlesungen im Bereich Anorganischer Chemie

*Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Universität Freiburg*

1997-1998 Zivildienst in der klassischen bakteriologischen Diagnostik; alle Arten von pathogen Keimen einschließlich Mycobakteriendiagnostik mit Methoden der Differenzierung, Aufarbeitung, Antibiogramme, Befunde

1998-1999 Einstellung als CTA im PCR-Labor mit

1997-
2001

allen PCR-Methoden: DNA-Präparation (Phenol-Chloroform-Methode und Kits), PCR, nested PCR, LCR, DNA Sequenzierung, Etablierung neuer PCR's wie Leptospira interrogans-PCR; Kultivierung von Leptospira interrogans mit Diagnostik, Leitung der Chemieentsorgung des Instituts

1999-2001 Leiter des Nährmedien- und Reagenzienlabors mit drei Mitarbeitern, Herstellung von Nährmedien, Aufbau einer Qualitätskontrolle, Einkauf der Chemikalien, Verkauf der produzierten Medien an andere Labors, Instandhaltung und Wartung der Labortechnik, Betreuung von Praktikanten, Formulierung und Prüfung neuer Nährmedien

**Berufliche Weiter-
bildungen**

- Zulassung für den Umgang mit infektiösen Materialien nach IfSG §44
- Projektleiter gemäß §21 Abs. GenTG
- Sachkundeprüfung gemäß Gefahrstoffverordnung
- Fortbildungen in Gefahrguttransportrecht, Arbeiten mit

radioaktiven Substanzen, Umgang, Lagerung, Recht von (hoch-)entzündlichen, (sehr) giftigen und explosiven Substanzen

- Arbeiten mit hochinfektiösen Materialien
- Arbeiten unter sterilen Bedingungen
- Chemischer Sondermüll (Entsorgung, Umgang, Aufarbeitung, Recht)
- Kenntnis Chemischer Datenbanken,
- Kenntnis ChemOffice
- Differenzierung von Pilzen
- Sensorikprüfer bei der DLG
- Mitarbeit im DIN AK – Wassermikrobiologie

Veröffentlichung

- Dilger T, Ries H, Jahnke H, Wittmer A, Pelz K., „Mikrobiologischer Verlauf einer Schwimmbadparty“, *Hyg & Mikrobiol* 2000; 2: 38-40
- D. Losic, R. J. Pillar, T. Dilger, J. G. Mitchell, and N. H. Voelcker, “Atomic Force Microscopy (AFM) characterisation of the porous silica nanostructure of two centric diatoms,” *Journal of Porous Materials*, vol. 14, no. 1, pp. 61–69, 2007
- Dilger, T., Melzl, H., Gessner, A., 2016. Legionella Contamination in Warm Water Systems in Germany – Influence of Maximal Temperature and Temperature during Sampling [German: Legionellen-Kontaminationen in Warmwassersystemen in Deutschland – Einfluss der maximal erreichbaren Temperatur und der Temperatur bei der Probenahme], *gwf – Wasser / Abwasser*, vol. 157, no. 03, pp. 262-271
- Dilger, T., Melzl, H., Gessner, A., 2016b. Rapid and reliable identification of waterborne Legionella species by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods* 127, 154–159. doi:10.1016/j.mimet.2016.05.028.

- Dilger T, Melzl H, Gessner A.; 2018 Legionella contamination in warm water systems: A species-level survey: *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 221(2):199-210. doi: 10.1016/j.ijheh.2017.10.011.

Sonstige Ausbildungen

- Tauchschein CMAS **
- Lehr- und Prüfberechtigung in Erster Hilfe, Schwimmen und Rettungsschwimmen
- Führerscheine Klassen 1 und 3
- Bootsführerschein Binnen
- Software: Microsoft Office

Hobbys

- Rettungsschwimmen / Schwimmen
- Tauchen
- Fechten
- Ski fahren
- Ehrenamtliche Tätigkeit bei der DLRG als Lehrer und Prüfer in den Bereichen Kinder- und Erwachsenenschwimmen sowie Rettungsschwimmen